

TECHLAB®

C.DIFF QUIK CHEK COMPLETE®

Szybki membranowy test immunoenzymatyczny
do jednoczesnego wykrywania
antygeny dehydrogenazy glutaminianowej oraz toksyn A i B *Clostridium difficile*
w próbkach kału

Nr kat. T30525C (25 testów) lub T30550C (50 testów)

Patent U.S. Nr: 5,965,375

Patent dodatkowy w trakcie procedury

Opracowany i wyprodukowany przez:



Blacksburg, VA 24060



Dystrybutor



Alere North America, Inc.
30 South Keller Road
Orlando, Florida 32810
Tel: 1-877-441-7440
1-321-441-7200 (poza USA)

Logo Alere i Aler są znakami handlowymi grupy firm Alere.

C.DIFF QUIK CHEK COMPLETE® i TECHLAB są znakami handlowymi TECHLAB®, Inc.

Made in USA.

© 2010 TECHLAB®, Inc. Wszystkie prawa zastrzeżone

Nr instrukcji: 91-T525C- 01

Wydanie: 05/2015

Międzynarodowe symbole - klucz



Numer katalogowy



Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro



Numer serii



Zawiera ilość odczynników
wystarczającą na <n> testów



Zakres temperatur



Użyć przed upływem daty ważności



Oznakowanie CE

Uwaga, zapoznać się z
załączonymi dokumentami

TECHLAB® C. DIFFICILE QUIK CHEK COMPLETE®

PRZEZNACZENIE

Test C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE COMPLETE® firmy TECHLAB® jest szybkim membranowym testem immunoenzymatycznym stosowanym do jednoczesnego wykrywania antygenu dehydrogenazy glutaminianowej *Clostridium difficile* oraz toksyn A i B w jednej studzience reakcyjnej. w próbkach kału pobranych od osób podejrzanych o zachorowanie na *C. difficile*. Jako badanie przesiewowe na obecność *C. difficile* test wykrywa antygen *C. difficile*, dehydrogenazę glutaminianową, i potwierdza obecność toksynotwórczego *C. difficile* poprzez wykrycie toksyn A i B w próbkach kału pochodzącego od osób podejrzanych o chorobę wywołaną przez *C. difficile*. Test powinien być stosowany jako pomoc w diagnozie zachorowań na *C. difficile*. Jak w przypadku innych testów na *C. difficile*, wyniki powinny być rozpatrywane w połączeniu z historią pacjenta.

TYLKO DO UŻYTKU DIAGNOSTYCZNEGO IN VITRO.

WYJAŚNIENIE

Po leczeniu antybiotykowym u wielu pacjentów występują problemy żołądkowo-jelitowe, poczynając od łagodnych biegunk po ciężkie rzekomobłoniaste zapalenie jelita grubego. Wiele przypadków łagodniejszych postaci chorób żołądkowo-jelitowych i większość przypadków rzekomobłoniastego zapalenia jelita grubego spowodowanych jest przez toksynotwórcze szczepy *Clostridium difficile* (1). Organizm ten jest oportunistyczną bakterią beztlenową, która rozwija się w jelicie po tym jak normalna flora została zmieniona przez antybiotyki. Toksynotwórcze szczepy *C. difficile* posiadają geny kodujące toksyny, podczas gdy szczepy nietoksynotwórcze nie posiadają genów toksyn. Choroba powodowana jest przez toksyny wytwarzane przez organizm toksynotwórczy. Uważa się, że za objawy kliniczne związane z chorobą odpowiada przede wszystkim toksyna A, która jest enterotoksyną niszczącą tkankę (2,3). *Clostridium difficile* wytwarza również drugą toksynę, oznaczoną jako toksyna B. Toksyna B, która nazywana jest cytotoksyną organizmu, jest toksyną wykrywaną przez hodowlę tkankową, stosowaną obecnie przez niektóre laboratoria. Toksynotwórcze szczepy *C. difficile* wytwarzają albo obie toksyny albo jedynie toksynę B (4-7). Dehydrogenaza glutaminianowa *C. difficile* jest dobrym markerem antygenu bakterii w kale ponieważ jest wytwarzana w dużych ilościach przez wszystkie szczepy, toksynotwórcze i nietoksynotwórcze (8-10). Antygen jest wykrywalny w próbkach kału przy zastosowaniu testu C.DIFF QUIK CHEK COMPLETE®. Wynik dodatni w teście, który jest swoisty dla dehydrogenazy glutaminianowej *C. difficile* potwierdza obecność tego organizmu w próbce kału; wynik ujemny wskazuje na nieobecność organizmu. Wynik dodatni testu dla toksyn A i B potwierdza obecność toksynotwórczego *C. difficile*.

ZASADA TESTU

Test C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® wykorzystuje przeciwciała swoiste dla dehydrogenazy glutaminianowej oraz toksyn A i B *C. difficile*. Na płytce znajduje się okienko reakcyjne z trzema pionowymi liniami unieruchomionych przeciwciał. Linia testowa antygenu ("Ag") pokryta jest przeciwciałami przeciwko dehydrogenazie glutaminianowej *C. difficile*. Linia kontrolna ("C") jest linią przerywaną zawierającą przeciwciała przeciwko peroksydazie chrzanowej (HRP). Linia testowa toksyn A i B ("Tox") pokryta jest przeciwciałami przeciwko toksynom A i B *Clostridium difficile*. Koniugat składa się z przeciwciał przeciwko dehydrogenazie glutaminianowej oraz przeciwciał przeciwko toksynom A i B, sprzężonym z peroksydazą chrzanową. Aby wykonać test należy dodać próbkę do próbki zawierającej mieszaninę Rozcieńczalnika i Koniugatu. Następnie mieszanina koniugatu z rozcieńczoną próbką dodawana jest do Studzienki na próbkę i płytka pozostawiona zostaje na 15 minut w temperaturze pokojowej celem inkubacji. Podczas inkubacji dehydrogenaza glutaminianowa oraz toksyny A i B obecne w próbce wiążą się z koniugatem przeciwciała-peroksydaza. Kompleksy antygen-przeciwciała-koniugat migrują przez wkładkę filtrującą do membrany, gdzie są wychwytywane przez unieruchomione na liniach przeciwciała swoiste dla dehydrogenazy glutaminianowej oraz przeciwciała swoiste dla toksyn A i B. Następnie Okienko reakcyjne przepłukiwane jest Buforem płuczącym, po czym dodany zostaje Substrat. Po 10-cio minutowej inkubacji odczytuje się wizualnie reakcję "Ag" na obecność pionowej niebieskiej linii po stronie "Ag" Okienka reakcyjnego. Niebieska linia oznacza wynik dodatni. Jeśli "Ag" jest dodatnie, wtedy należy ocenić reakcję "Tox" wizualnie na obecność niebieskiej linii po stronie "Tox" Okienka reakcyjnego. Linia niebieska wskazuje na wynik dodatni. Dodatnia reakcja "C" w postaci pionowej, przerywanej niebieskiej linii po stronie "C" Okienka reakcyjnego potwierdza, że test działa prawidłowo i że jego wynik jest ważny.

MATERIAŁY DOSTARCZONE

MEM	DEV
-----	-----

Płytki testowe – każda torebka zawiera 1 płytkę

DIL	SPE
-----	-----

Rozcieńczalnik (22 ml w butelce) - buforowany roztwór białka ze skalowanym zakraplaczem (zawiera 0,05% ProClin® 300)



WASH	REAG
------	------

Bufor płuczący (12 ml w butelce) - buforowany roztwór ze skalowanym zakraplaczem (zawiera 0,05% ProClin® 300)



SUBS	REAG
------	------

Substrat (3.5 ml w butelce) - roztwór zawierający tetrametylobenzydynę

CONJ	ENZ
------	-----

Koniugat (2.5 ml w butelce) - mysie przeciwciała monoklonalne swoiste dla dehydrogenazy glutaminianowej sprzężone z peroksydazą chrzanową i kozie przeciwciała poliklonalne swoiste dla toksyn A i B sprzężone z peroksydazą chrzanową w buforowanym roztworze białka. (zawiera 0,05% ProClin® 300)



CONTROL	+
---------	---

Kontrola dodatnia (2 ml) - antygen w buforowanym roztworze białka

Jednorazowe plastikowe pipetki - ze znacznikami na 25 µl, 400 µl i 500 µl)

IVD Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro

Uwaga

H317: Może powodować reakcje alergiczne na skórze
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

MATERIAŁY I WYPOSAŻENIE WYMAGANE, LECZ NIEDOSTARCZONE

Małe próbki (Np. plastikowe próbki Eppendorf lub próbki szklane)

Aplikatory *Zegar*
Jednorazowe rękawiczki do pracy z próbkami kału

Mieszadło typu vortex
Pipetor i końcówki

TRWAŁOŚĆ I PRZECHOWYWANIE

Data ważności zestawu podana jest na etykiecie. Daty ważności każdego składnika podane są na poszczególnych etykietach. Zestaw powinien być przechowywany w temperaturze pomiędzy 2° a 8°C.

OSTRZEŻENIA

1. Nie powinno się mieszać odczynników z różnych zestawów. Nie używać zestawu po podanej dacie ważności.
2. Każdy składnik zestawu powinien być obejrany pod kątem jakichkolwiek nieszczelności. Przy dostawie, należy sprawdzić czy składniki nie są zamrożone lub ciepło przy dotykaniu z powodu niewłaściwych warunków wysyłki.
3. Należy doprowadzić wszystkie składniki do TEMPERATURY POKOJOWEJ PRZED ICH UŻYCIEM.
4. Zakrętki, końcówki i buteleczki z zakraplaczem posiadają kolorowe oznaczenie kodowe; NIE mieszać lub zamieniać ich!
5. Nie zamrażać odczynników. Zestaw powinien być przechowywany w temperaturze pomiędzy 2° a 8°C.
6. Opakowanie zawierające Płytkę testową powinno być doprowadzone do temperatury pokojowej przed otwarciem i otwarte bezpośrednio przed użyciem. Przechowywać płytki w suchym miejscu.
7. W celu uzyskania optymalnych wyników użyć próbki kału w ciągu 72 godzin od pobrania. Próbkę, które zostały zamrożone mogą stracić swoją aktywność z powodu zamrażania i odmrażania. Jeśli stosowane są próbki zamrożone, należy rozmrażać je w temperaturze pokojowej.
8. Dodając odczynniki trzymać buteleczki z zakraplaczem w pozycji pionowej celem zapewnienia właściwej wielkości kropli.
9. Próbkę i płytkę testową należy traktować i utylizować po użyciu jako zagrożenie biologiczne.
10. Płytek testowych nie można powtórnie używać.
11. Test został zoptymalizowany pod kątem czułości i swoistości. Zmiana podanej procedury i/lub warunków wykonania testu może mieć wpływ na czułość i swoistość testu. Należy postępować ściśle według podanej procedury.
12. W przypadku badania więcej niż jednej próbki kału zwracać uwagę na całkowity czas oznaczenia. Najpierw dodać Rozcieńczalnik, a potem do każdej próbki z Rozcieńczalnikiem dodać Koniugat. Następnie dodać próbki do probówek z Rozcieńczalnikiem/Koniugatem. Dokładnie wymieszać wszystkie rozcieńczone próbki i wtedy przenieść je na Płytkę testową. 15-to minutowy okres inkubacji zaczyna się od momentu przeniesienia ostatniej rozcieńczonej próbki z koniugatem na ostatnią Płytkę testową.
13. Jeśli Substrat zmieni kolor na ciemnoniebieski/ fioletowy należy skontaktować się z dostawcą w celu wymiany.
14. Próbkę kału mogą zawierać substancje potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane na "Poziomie bezpieczeństwa biologicznego 2" zgodnie z zaleceniami w instrukcji CDC / NIH "bezpieczeństwa biologicznego w laboratoriach mikrobiologicznych i biomedycznych".
15. Wszystkie wyroby w zestawie to odczynniki medyczne do diagnostyki in vitro.
16. Nosić rękawiczki jednorazowe w trakcie wykonywania testu.
17. Odczynnik do rozcieńczania zawiera 0,05% ProClin® 300 jako środka konserwującego. Chociaż stężenie jest niskie, ProClin® 300 uznawany jest za środek szkodliwy. W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki, zasięgnąć porady lekarza / Uwaga. Zdjąć zanieczyszczoną odzież i umyć ją przed ponownym użyciem. Używać odczynników według obowiązujących przepisów dotyczące bezpieczeństwa laboratoryjnego i dobrej praktyki laboratoryjnej. Karty Charakterystyki tego produktu są dostępne na żądanie, skontaktuj się z dystrybutorem.
18. W celu utylizacji odpadów należy stosować się do krajowych, regionalnych i lokalnych zaleceń.

POBIERANIE PRÓBEK KAŁU I OBCHODZENIE SIĘ Z NIMI

Dopuszczalny typy próbek
Świeże próbki kału
Mrożone próbki kału
Próbki na podłożach transportowych (Cary Blair, C&S)

Nie używać
Do próbek w utrwalaczach na bazie formaliny (np. formalinie octowo sodowej, 10% formalinie, mertiolat formalinie)
Do próbek w utrwalaczach na bazie alkoholu (np. alkohol poliwinylowy)

Temperatura przechowywania próbki	Dopuszczalna długość przechowywania	Uwagi
2°C – 8°C	72 godziny	Idealna próbka nie powinna mieć więcej niż 24 godziny
Zamrożone w ≤ -10°C	Dłużej niż 72 godziny	Rozmrażać w temperaturze pokojowej. Wielokrotne zamrażanie i rozmrażanie może spowodować utratę aktywności próbki w związku z degradacją toksyny

1. Właściwe są standardowe procedury laboratoryjne pobierania i obchodzenia się z próbkami kału.
2. Próbkę kału powinny być pobierane do czystego, szczelnego pojemnika.
3. NIE zaleca się przechowywania próbek w Rozcieńczalniku.
4. Nie dopuścić, aby próbki kału pozostały w Rozcieńczalniku/Koniugacie przez czas dłuższy niż 24 godziny.

PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

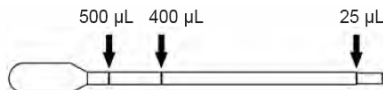
1. Przed użyciem doprowadzić wszystkie odczynniki i wymaganą ilość płytek do temperatury pokojowej. Zaleca się usunąć odczynnik z wkładki piankowej w celu zmniejszenia czasu potrzebnego do osiągnięcia temperatury pokojowej.
2. Przygotować i oznaczyć po jednej małej probówce dla każdej próbki i opcjonalnie dla zewnętrznych kontroli, jeżeli jest to konieczne.
3. Używając czarnej buteleczki ze skalowanym zakraplaczem dodać 750 µl (drugi znacznik od końcówki) Rozcieńczalnika do każdej próbki na próbkę kału. W przypadku próbek pobranych na podłoża transportowe takie jak Cary Blair lub C&S do każdej próbki dodać 650 µl Rozcieńczalnika.

Typ próbki	Objętość diluentu
Świeże próbki kału	750 µl (druga podziałka od końcówki)
Mrożone próbki kału (zamrożone, nierozcieńczone)	750 µl (druga podziałka od końcówki)
Próbki na podłożach transportowych (Cary Blair, C&S)	650 µl (podziałka niedostarczona)
Zewnętrzne kontrole (pozytywne i negatywne)	750 µl (druga podziałka od końcówki)



4. Dodać jedną kroplę Koniugatu (buteleczka z czerwoną zakrętką) do każdej próbki.
5. Wyjąć 1 jednorazową plastikową pipetkę (dostarczoną w zestawie) na każdą próbkę - pipetki posiadają znaczniki na 25 μ l, 400 μ l i 500 μ l.

Skalowana pipetka:



6. Dokładnie wymieszać wszystkie próbki bez względu na ich konsystencję - ważne jest, aby próbki miały jednorodną zawiesistość przed ich przeniesieniem.

Próbki ciekłe/półstałe - nabrać 25 μ l próbki pipetką i napipetować do roztworu Rozcieńczalnika/Koniugatu. Użyć tej samej pipetki do wymieszania rozcieńczonej próbki.

Próbki stałe/twarde próbki - należy zwrócić uwagę, aby dodać właściwą ilość stałego kału do roztworu. Dokładnie wymieszać próbkę używając drewnianej bagietki aplikacyjnej i przenieść małą objętość próbki (o średnicy około 2 mm, odpowiednik 25 μ l) do roztworu Rozcieńczalnika/Koniugatu. Wymieszać próbkę przy użyciu bagietki aplikacyjnej.

Próbki kału na podłożu transportowym Cary Blair lub C&S - napipetować 100 μ l próbki (2 krople z pipetki) do roztworu Rozcieńczalnika/Koniugatu.

7. Opcjonalne próbki kontroli zewnętrznej:

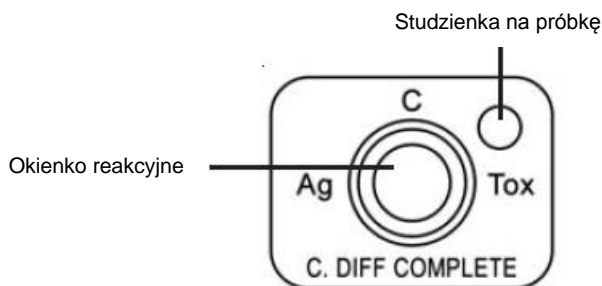
Zewnętrzna kontrola dodatnia – dodać jedną kroplę Kontroli dodatniej (buteleczka z szarą zakrętką) do roztworu Rozcieńczalnika/Koniugatu.

Zewnętrzna kontrola ujemna - dodać 25 μ l Rozcieńczalnika do roztworu Rozcieńczalnika/Koniugatu.

UWAGA: Przeniesienie zbyt małej ilości próbki lub niewymieszanie i niecałkowite rozprowadzenie próbki w roztworze Rozcieńczalnika może skutkować wynikami fałszywie ujemnymi. Dodanie zbyt dużej ilości próbki kału może skutkować wynikami nieważnymi z powodu ograniczenia przepływu próbki.

WYKONANIE OZNACZENIA

1. Wyjąć jedną Płytkę testową na każdą próbkę i po jednej płytce na opcjonalną zewnętrzną kontrolę dodatnią lub ujemną, w zależności od potrzeby. Foliowe opakowania powinny zostać doprowadzone do temperatury pokojowej przed ich otwarciem. Test należy użyć natychmiast po otwarciu opakowania. Oznakować każdą płytkę i położyć na płaskiej powierzchni w taki sposób, aby nadruk "C. DIFF COMPLETE" znajdował się na dole płytki, a mała Studzienka na próbkę (Sample Well) w prawym górnym rogu płytki.



2. Zamknąć każdą próbkę z rozcieńczoną próbką i dokładnie wymieszać. Prawidłowe wymieszanie można uzyskać używając mieszadła lub poprzez obracanie próbki w górę i dół. Po rozcieńczeniu w mieszanke Rozcieńczalnik/ koniugat, próbka pacjenta lub kontrola dodatnia, przed zakropieniem na płytce testowej może być inkubowana w temperaturze pokojowej do 24 godziny.

3. Używając nowej pipetki, przenieść 500 μ l rozcieńczonej mieszanki próbki z koniugatem do Studzienki na próbkę na płytce testowej (mały otwór w górnym, prawym rogu płytki), upewniając się, że ciekła próbka została napipetowana na absorbującą membranę wewnątrz Płytki testowej. W trakcie dodawania próbki do Studzienki na próbkę należy upewnić się, że końcówka pipetki jest nachylona w kierunku Okienka reakcyjnego (większy otwór w środku płytki).

4. Inkubować płytkę przez 15 minut w temperaturze pokojowej - próbka przesączy się wewnątrz płytki i wilgotny obszar widoczny będzie w Okienku reakcyjnym.

UWAGA NA PRÓBKĘ, KTÓRE NIE MIGRUJĄ

Czasami nie można zbadać rozcieńczonej próbki kału z powodu zatkania membrany i wtedy próbka nie przeniknie poprawnie do okienka reakcyjnego. Jeżeli rozcieńczona próbka kału nie przeniknie poprawnie w ciągu 5 minut od dodania próbki do Studzienki na próbkę (tzn. membrana w Okienku reakcyjnym nie jest całkowicie wilgotna), wtedy dodać 100 μ l (4 krople) Rozcieńczalnika do Studzienki na próbkę i odczekać kolejne 5 minut (łącznie 20minut).

5. Po inkubacji dodać 300 μ l Buforu płuczącego do **Okienka reakcyjnego** przy użyciu skalowanej buteleczki z białym zakraplaczem. Odczekać aż Bufor płuczący wpłynie do Okienka reakcyjnego i zostanie całkowicie zaabsorbowany.

6. Dodać 2 krople Substratu (buteleczka z białą zakrętką) do **Okienka reakcyjnego**. Po 10 minutach odczytać i zanotować wyniki.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

1. Interpretacja testu jest najbardziej wiarygodna kiedy wyniki odczytane są bezpośrednio pod koniec 10 minutowego czasu reakcji. Odczytać wynik z normalnej odległości, w dobrze oświetlonym miejscu. Oglądać płytkę z linią wzroku bezpośrednio nad płytką.

2. Należy przyjrzeć się czy pojawiły się niebieskie kropki w środku Okienka reakcyjnego; jest to wewnętrzna kontrola dodatnia. Pojawienie się każdej ilości kropek/ kropki oznacza, że działa kontrola wewnętrzna. Tło może zmieniać kolor od jasnego do ciemno niebieskiego. Zaobserwować czy pojawiła się niebieska linia po stronach „Ag” i „Tox” Okienka reakcyjnego; są to linie testowe. Intensywność linii może być zmienna, od białej do ciemnej.

3. **Wynik dodatni dla antygeny („Ag”)**: Wynik dodatni dla antygeny można zinterpretować w jakimkolwiek momencie pomiędzy dodaniem Substratu a 10-cio minutowym czasem odczytu. Pojawienie się niebieskiej linii „Ag” łącznie z niebieską, przerywaną linią kontrolną pod „C” (Rys. 1) należy interpretować jako wynik dodatni dla antygeny. Intensywność linii może być zmienna, od białej do ciemnej. Wyraźna linia częściowa interpretowana jest jako wynik dodatni. Nie interpretować odbarwienia membrany jako wynik dodatni. Wynik dodatni wskazuje na obecność *C. difficile*.

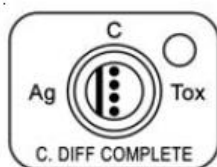
4. **Wynik dodatni dla toksyny („Tox”)**: Jeśli wynik dla antygeny jest dodatni (tzn. jeśli widoczna jest niebieska linia „Ag” i przerywana, niebieska linia kontrolna pod „C”) należy przejść do interpretacji wyniku dla toksyn. Wynik dodatni dla toksyn można zinterpretować w jakimkolwiek momencie pomiędzy dodaniem Substratu a 10-cio minutowym czasem odczytu. Pojawienie się niebieskiej linii „Tox” (Rys. 1b) oznacza wynik dodatni dla toksyn. Intensywność linii może być zmienna, od białej do ciemnej. Wyraźna linia częściowa interpretowana jest jako wynik dodatni. Nie interpretować odbarwienia membrany jako wynik dodatni. Wynik dodatni wskazuje na obecność toksyn *C. difficile*.

5. **Wynik ujemny**: Nie wolno interpretować testu jako ujemny lub nieważny przed upłynięciem 10 minut od dodania Substratu. Widoczna jest jedna przerywana, niebieska linia w środku Okienka reakcyjnego, pod „C” i nie ma widocznych linii testowych po stronie „Ag” lub „Tox” Okienka reakcyjnego (Rys. 1c). Wynik ujemny w części antygeny oznacza, że antygen *C. difficile* jest albo nieobecny w próbce albo jest poniżej granicy wykrywalności testu. Wynik ujemny w części toksyn oznacza, że toksyny *C. difficile* są albo nieobecne w próbce albo są poniżej granicy wykrywalności testu.

6. **Wynik nieważny**: Brak widocznych linii w Okienku reakcyjnym (Rys. 1d). Wynik testu jest nieważny, jeżeli po zakończeniu okresu reakcji, pod „C”, nie pojawiła się przerywana, niebieska linia kontrolna (Rys. 1e, 1f, 1g).

7. **Wynik ujemny dla antygeny („Ag”), dodatni dla toksyn („Tox”)**: procent próbek może dać wyniki ujemne dla antygeny, ale dodatnie dla toksyn. Takie próbki uważa się za nieoznaczone i należy je ponownie przebadать używając świeżej próbki (Rys. 1h). Jeśli próbka badana powtórnie będzie dodatnia dla toksyn i ujemna dla antygeny, wynik należy zapisać jako dodatni dla toksyn.

Rys. 1: INTERPRETACJA WYNIKÓW C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®



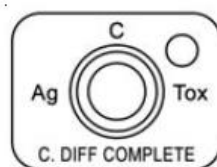
Rys. 1a
Wynik dodatni dla
antygeny



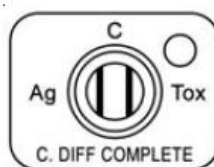
Rys. 1b
Wynik dodatni dla
antygeny i toksyn



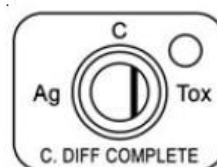
Rys. 1c
Wynik ujemny



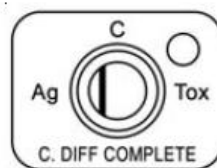
Rys. 1d
Wynik nieważny



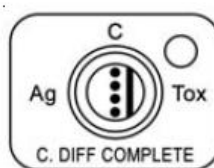
Rys. 1e
Wynik nieważny



Rys. 1f
Wynik nieważny



Rys. 1g
Wynik nieważny



Rys. 1h
Interpretacja w pkt. 7

KONTROLA JAKOŚCI

Wewnętrzna: Niebieska, przerywana linia kontrolna musi być widoczna w środku Okienka reakcyjnego, pod „C” na każdej płytce testowej używanej do wykonania badania. Pojawienie się niebieskich kropek kontrolnych potwierdza, że próbka i odczynniki zostały prawidłowo dodane i że odczynniki były aktywne w chwili wykonywania oznaczenia, a próbka prawidłowo przeniknęła przez Płytke testową. Czyste tło w obszarze wyników traktowane jest jako wewnętrzna kontrola ujemna. Jeżeli test został prawidłowo wykonany i odczynniki zachowały się poprawnie, tło będzie czyste, a wynik widoczny.

Zewnętrzna: Reaktywność zestawu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® powinna zostać sprawdzona w momencie jego otrzymania, za pomocą kontroli dodatniej i kontroli ujemnej (Rozcieńczalnik). Kontrola dodatnia dostarczona jest w zestawie (buteleczka z szarą zakrętką). Kontrola dodatnia potwierdza reaktywność pozostałych odczynników stosowanych w oznaczeniu, ale nie jest przeznaczona do zapewnienia precyzji analitycznej oznaczenia przy progu odcięcia testu. Rozcieńczalnik używany jest jako kontrola ujemna. Można wykonać dodatkowe testy z kontrolami, w celu zapewnienia zgodności z wymaganiami lokalnymi, stanowymi i/lub federalnymi czy wymaganiami jednostek akredytujących.

OGRANICZENIA

1. Test C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® stosowany jest do wykrywania antygeny i toksyny / toksyn *C. difficile* w próbkach kału. Test potwierdza obecność toksyny w kale i informacja ta powinna być wzięta pod uwagę przez lekarza w świetle historii klinicznej oraz fizycznego badania pacjenta. Test C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® wykrywa toksynę A na poziomie ≥ 0.63 ng/ml, toksynę B na poziomie ≥ 0.16 ng/ml oraz dehydrogenazę glutaminianową na poziomie ≥ 0.8 ng/ml.
2. Próbkę kału są wyjątkowo złożonymi próbkami klinicznymi. Optymalne wyniki w teście C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® uzyskuje się w próbkach, które mają mniej niż 24 godziny od pobrania. Większość nierozcieńczonych próbek można przechowywać w temp. pomiędzy 2° a 8°C przez 72 godziny zanim zostanie zaobserwowana znaczna degradacja toksyn. Jeżeli próbki nie zostaną zbadane w tym czasie, mogą być zamrożone i odmrożone. Jednak powtórne zamrażanie i odmrażanie może skutkować utratą immunoreaktywności antygeny i toksyn A i B.
3. Niektóre próbki mogą dawać słabe reakcje. Może to być spowodowane paroma czynnikami takimi jak: obecność niskich poziomów antygeny i/lub toksyn, obecność substancji wiążących, lub enzymów dezaktywujących w kale. W takiej sytuacji należy zbadać świeżą próbkę. Dodatkowe badania, które mogą być zastosowane w połączeniu z testem C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® obejmują hodowlę z badaniem toksynotwórczym lub hodowlę tkanek celem wykazania cytotoksyczności do wykrywania *C. difficile* i jej toksyny/toksyn.
4. Próbkę kału, które zostały zakonserwowane w 10% formalinie, MF, SAF lub PVA nie mogą być używane.
5. C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® jest testem jakościowym. Intensywność zabarwienia nie powinna być interpretowana ilościowo.
6. Niektóre izolaty *C. sordelli* mogą reagować z testem C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®, ponieważ wytwarzają toksyny pokrewne immunologicznie (1).
7. Stopień kolonizacji u dzieci oszacowano na do 50%. Wysoki stopień wykazany został również u pacjentów z mukowiscydozą (1,3).
8. Jedynym organizmem innym niż *C. difficile*, który reagował w obszarze toksyn testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® było *Clostridium sordelli* VPI 9048. Ten szczep wytwarza toksyny HT i LT, które są homologiczne do, odpowiednio, toksyny A i B.

OCZEKIWANE WARTOŚCI

Choroba związana z *Clostridium difficile* jest przede wszystkim chorobą szpitalną pacjentów starszych, a częstotliwość choroby jest zależna od czynników takich jak populacja, rodzaj jednostki szpitalnej oraz epidemiologii. Odnotowane występowanie chorób związanych z *C. difficile* u pacjentów z biegunkami poantybiotykowymi wynosi pomiędzy 5 a 20%; szpitale mogą notować częstość

występowania mniejszą lub większą niż ten zakres. Ważne jest, aby rozpatrywać wszystkie wyniki badań w połączeniu z objawami klinicznymi, ponieważ niektórzy zdrowi dorośli i duża liczba zdrowych dzieci (do 50%) będzie miała wynik dodatni na toksynę *C. difficile*. Ponadto, u pacjentów z mukowiscydozą odnotowano nosicielstwo w zakresie 22 do 32% (1,3). W badaniach przeprowadzonych z tym testem na pacjentach symptomatycznych, występowanie toksyn A i B wyniosło 12%, a GDH 18%. Wynik dodatni w części antygenowej testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® potwierdza obecność *C. difficile* w próbce kału; wynik ujemny wskazuje na nieobecność organizmu. Wynik dodatni w części toksyn testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® potwierdza obecność toksyn *C. difficile* w próbce kału; wynik ujemny wskazuje na nieobecność toksyn lub poziomy toksyn niewystarczające do wykrycia.

CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA

Ocena kliniczna części antygenowej testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®

Część antygenowa testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® została porównana z badaniem hodowli bakteryjnej. Próbkę włączone do oceny zostały przesłane do laboratoriów klinicznych celem rutynowego zbadania. Badanie hodowli bakteryjnej zostało wykonane zgodnie z wewnętrzną procedurą. Poniższa Tabela 1 pokazuje wyniki.

Tabela 1. Podsumowanie działania w porównaniu testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® z hodowlą bakteryjną.

n = 1 126	Dodatnia hodowla bakteryjna	Ujemna hodowla bakteryjna
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Dodatnia linia antygeny	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Ujemna linia antygeny	21	842

	Granice przedziału ufności 95%	
Czułość	90.5%	85.7 – 93.9
Swoistość	93.1%	91.2 – 94.7
Dodatnia wartość predyktywna	76.4%	70.7 – 81.3
Ujemna wartość predyktywna	97.6%	96.2 – 98.4
Korelacja	92.6%	91.8 – 93.4%

Próbki niezgodne zostały rozstrzygnięte przy zastosowaniu rynkowych testów ELISA do wykrywania dehydrogenazy glutaminianowej *C. difficile*. Dwadzieścia dziewięć z 62 fałszywie dodatnich próbek dało wynik dodatni w innym teście na GDH i zostały sklasyfikowane jako prawdziwie dodatnie. Z 21 próbek fałszywie ujemnych trzynaście dało wynik ujemny w innym teście na GDH i zostały sklasyfikowane jako prawdziwie ujemne.

Część antygenowa testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® została porównana z badaniem hodowli tkankowej w celu wykrycia toksyn *C. difficile*. Próbkę włączone do oceny zostały przesłane do laboratoriów klinicznych celem rutynowego zbadania. Wyniki pokazuje Tabela 2. Część antygenowa testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® wykryła 98.7% próbek, które były oznaczone jako dodatnie w hodowli tkankowej.

Tabela 2. Podsumowanie działania w porównaniu testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® z badaniem hodowli tkankowej.

n = 1 126	Dodatnia hodowla tkankowa	Ujemna hodowla tkankowa
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Dodatnia linia antygeny	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Ujemna linia antygeny	2	861

Ocena kliniczna części toksyn testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®

Część toksyn testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® została porównana z badaniem hodowli tkankowej w dwóch laboratoriach klinicznych oraz wewnętrznie, w TECHLAB®, Inc.. Próbkę włączone do oceny zostały przesłane do laboratoriów klinicznych celem rutynowego zbadania. Tabela 3 pokazuje wyniki.

Tabela 3. Podsumowanie działania w porównaniu testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® z badaniem hodowli tkankowej.

n = 1 126	Dodatnia hodowla tkankowa	Ujemna hodowla tkankowa
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Dodatnia linia toksyn	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Ujemna linia toksyn	19	964

	Granice przedziału ufności 95%	
Czułość	87.8%	81.4 – 92.3
Swoistość	99.4%	98.6 – 99.7
Dodatnia wartość predyktywna	95.8%	90.7 – 98.3
Ujemna wartość predyktywna	98.1%	96.9 – 98.8
Korelacja	97.8%	97.6 – 98.0

Próbki niezgodne zostały rozstrzygnięte przy zastosowaniu rynkowych testów ELISA do wykrywania toksyn A i B. Pięć z 6 fałszywie dodatnich próbek dało wynik dodatni w teście ELISA i zostały sklasyfikowane jako prawdziwie dodatnie. Dwanaście z 19 próbek fałszywie ujemnych dało wynik ujemny w teście ELISA i zostały sklasyfikowane jako prawdziwie ujemne.

WPLYW KONSYSTENCJI PRÓBK KI KAŁU

Wpływ konsystencji próbek kału na badanie C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®

Tabele 4 i 5 pokazuje reakcje próbek kału o różnej konsystencji w części antygenowej (n=978) oraz części toksyn (n=981) testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®. Procent reakcji dodatnich przy zastosowaniu badania hodowli albo testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® były podobne dla wszystkich trzech typów próbek (płynne, półpłynne i stałe). Wszystkie próbki poddano badaniu na C. difficile. Podstawą skierowania na badania była historia kliniczna pacjenta, a nie konsystencja próbki. W części antygenowej wyniki pokazują, że przy badaniu próbek różnej konsystencji działanie testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® jest podobne do badania hodowli bakteryjnej. W części toksyn wyniki pokazują, że przy badaniu próbek różnej konsystencji działanie testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® jest podobne do badania hodowli tkankowej.

Tabela 4. Reakcje próbek kału o różnej konsystencji w części antygenowej testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®

Liczba próbek (n=978)	Próbki płynne (n=335)	Próbki półpłynne (n=522)	Próbki stałe (n=121)
Dodatnie w badaniu hodowli bakteryjnej	59 (17.6%)	110 (21.1%)	19 (15.7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Dodatnia linia antygeny	72 (21.5%)	128 (24.5%)	25 (20.7%)
Ujemne w badaniu hodowli bakteryjnej	276 (82.4%)	412 (78.9%)	102 (84.3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Ujemna linia antygeny	263 (78.5%)	394 (75.5%)	96 (79.3%)

Tabela 5. Reakcje próbek kału o różnej konsystencji w części toksyn testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®

Liczba próbek (n=981)	Próbki płynne (n=336)	Próbki półpłynne (n=523)	Próbki stałe (n=122)
Dodatnie w badaniu hodowli tkankowej	43 (12.8%)	81 (15.5%)	8 (6.6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Dodatnia linia toksyn	42 (12.5%)	72 (13.8%)	7 (5.7%)
Ujemne w badaniu hodowli tkankowej	293 (87.2%)	442 (84.5%)	114 (93.4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Ujemna linia toksyn	294 (87.5%)	451 (86.2%)	115 (94.3%)

CZUŁOŚĆ ANALITYCZNA

Próg odcięcia dla badania wyznaczony został przy stężeniu 0.63 ng/ml dla toksyny A, 0.16 ng/ml dla toksyny B i 0.8 ng/ml dla dehydrogenazy glutaminianowej.

ODTWARZALNOŚĆ

Odtwarzalność testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® została oznaczona w badaniu 12 próbek kału, zakodowanych, aby zapobiec identyfikacji podczas testu. Badanie przeprowadzono w trzech niezależnych laboratoriach, gdzie próbki były badane przez 3 dni. Probki dały wyniki oczekiwane w 100% przypadków.

REAKTYWNOŚĆ KRZYŻOWA

Próbki kału, w których posiano szczepy poniższych mikroorganizmów o końcowych stężeniach 10⁸ lub więcej organizmów na ml nie reagowały ani z częścią antygenową ani z częścią toksyn w teście C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®:

Bakteria lub patogen: *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Candida albicans*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium clostridiforme*, *Clostridium haemolyticum*, *Clostridium histolyticum*, *Clostridium novyi*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium sordellii* (nietoksynotwórcze), *Clostridium sporogenes*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* 0157 H7, *Escherichia coli* ETEC, *Klebsiella pneumoniae*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia liquifaciens*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*.

Jedynym organizmem innym niż *C. difficile*, który reagował w obszarze toksyn testu C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® było *Clostridium sordellii* VPI 9048. Ten szczep wytwarza toksyny HT i LT, które są homologiczne do, odpowiednio, toksyny A i B.

Następujące wirusy w ilości 10^{3.3} do 10^{8.25} jednostek TCID₅₀ na 0.2 ml nie reagowały w teście C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®:

Wirusy: Adenovirus typ 1,2,3,5,40,41; ludzki koronawirus, Coxsackievirus B2,B3,B4,B5, Echovirus 9,11,18,22,33, Enterovirus typ 68,69,70,71. Rotawirus.

SUBSTANCJE INTERFERUJĄCE

Następujące substancje (formuła U.S.) nie miały wpływu na wyniki testu, jeżeli obecne były w kale w podanych stężeniach: mucyna (3.5% w/v), krew ludzka (40% v/v), siarczan baru (5% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5 v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), kwas stearynowy/palmitynowy (40% w/v), Metronidazole (0.25% w/v), Vancomycin (0.25% w/v).

REAKCJE IZOLATÓW KLINICZNYCH OTRZYMANE NA AGARZE CYKLOSERYNOWO-CEFOKSYTYNOWO-FRUKTOZOWYM (CCFA)

Testem C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® przebadano 103 kliniczne izolaty *C. difficile*, otrzymane w wyniku trzydniowej anaerobowej hodowli bakteryjnej na CCFA, w 37°C. W celu analizy pobrano indywidualne kolonie i rozprowadzono do stanu zawiesiny za pomocą Rozcieńczalnika, tak jak zalecane jest dla próbek kału. Wszystkie 103 próbki w teście dały dodatnią reakcję antygenową. Siedemdziesiąt ze 103 izolatów (68%) pochodziło z próbek kału dodatnich na toksyny *C. difficile*, w badaniu hodowli tkankowej. Z tych 70 izolatów 56 (80%) dało dodatnią reakcję toksyn podczas badania wykonanego po hodowli anaerobowej na CCAF przez 3 dni w 37°C.

BIBLIOGRAFIA

1. Lyerly, D. M., H. C. Krivan, and T. D. Wilkins. 1988. *Clostridium difficile*: its disease and toxins. Clin. Microbiol. Rev. **1**:1-18.
2. Lyerly, D. M., K. E. Saum, D. K. MacDonald, and T. D. Wilkins. 1985. Effects of *Clostridium difficile* toxins given intragastrically to animals. Infect. Immun. **47**: 349-352.
3. Borriello, S. P., F. E. Barclay, A. R. Welch, J. M. Ketley, T. J. Mitchell, J. Stephen, and G. E. Griffin. 1985. Host and microbial determinants of the spectrum of *Clostridium difficile* mediated gastrointestinal disorders. Microecol. Ther. **15**:231-236.
4. Lyerly, D. M., N. M. Sullivan, and T. D. Wilkins. 1983. Enzyme-linked immunosorbent assay for *Clostridium difficile* toxin A. J. Clin. Microbiol. **17**:72-78.
5. Laughon, B. E., R. P. Viscidi, S. L. Gdovin, R. H. Yolken, and J. G. Bartlett. 1984. Enzyme immunoassays for detection of *Clostridium difficile* toxins A and B in fecal specimens. J. Infect. Dis. **149**: 781-788.
6. Lyerly, D. M., L. A. Barroso, and T. D. Wilkins. 1992. Characterization of a toxin A-/toxin B+ isolate of *Clostridium difficile*. Infect. Immun. **60**: 4633-4639.
7. Dove, C. H., S.-Z. Wang, S. B. Price, C. J. Phelps, D. M. Lyerly, T. D. Wilkins, and J. L. Johnson. 1990. Molecular characterization of the *Clostridium difficile* toxin A gene. Infect. Immun. **58**: 480-488.
8. Zheng, L., S. F. Keller, D. M. Lyerly, R. J. Carman, C. W. Genheimer, C. A. Gleaves, S. J. Kohlhepp, S. Young, S. Perez, and K. Ye. 2004. Multicenter Evaluation of a New Screening Test that Detects *Clostridium difficile* in Fecal Specimens. J. Clin. Microbiol. **42**:3837-3840.
9. Miles, B. L., J. A. Siders, and S. D. Allen. 1988. Evaluation of a commercial latex test for *Clostridium difficile* for reactivity with *C. difficile* and cross-reactions with other bacteria. J. Clin. Microbiol. **26**:2452-2455.
10. Lyerly, D. M., and T. D. Wilkins. 1986. Commercial latex test for *Clostridium difficile* Toxin A does not detect Toxin A. J. Clin. Microbiol. **23**:622-623.

DYSTRYBUTOR:

P.P.H.U. BOR-POL, 44-152 Gliwice, Plac Jaśminu 2,
tel./faks: (032) 270 61 35, (032) 237 86 21

www.borpol.com.pl

borpol@borpol.com.pl

STRESZCZENIE I WYJAŚNIENIE

Zestaw jest przeznaczony do oznaczenia wrażliwości bakterii na antybiotyki na podstawie określenia wartości MIC. MIC (minimalne stężenie hamujące) jest najniższym stężeniem środka przeciwbakteryjnego, który widocznie hamuje wzrost bakterii.

ZASADA

Zestaw składa się z płytek mikrotitracyjnych w formie 12 dających się dzielić pasków z których każdy zawiera 7 studzienek z malejącym gradientem bezwodnego antybakteryjnego podłoża oraz substancji pomocniczych i studzienkę z kontrolą wzrostu. Nawodnienie testu następuje przez dodanie zawiesiny (4001). Wyniki można odczytać po 16-20 godzinach incubacji.

ZESTAW ZAWIERA

- 4 pakowane indywidualnie mikroplanki / 48 testów
- 4 polietylenowe opakowania
- Instrukcja użycia
- 8 formularzy wyników

Nr. kat.	Skrót	Opis	Stężenie
8001	AMK	Amikacyna	1-64 mg/l
8002	AMP	Ampicylina	1-64 mg/l
8003	AMS	Ampicylina / sulbaktam	1/0.5-64/32 mg/l
8004	AZT	Aztreonam	0,125-8 mg/l
8005	CAZ	Ceftazydym	0,5-32 mg/l
8006	CEP	Cefepim	0,5-32 mg/l
8007	CFZ	Cefazolin	0,25-8 mg/l
8008	CIP	Cyprofloksacyna	0,06-4 mg/l
8009	CLI	Klindamycyna	0,06-4 mg/l
8010	CMP	Chloramfenikol	0,5-32 mg/l
8011	COL	Kolistyna	0,25-16 mg/l
8012	CTX	Cefotaksym	0,125-8 mg/l
8013	CXM	Cefuroksym	1-64 mg/l
8014	ERT	Ertapenem	0,06-4 mg/l
8015	ERY	Erytromycyna	0,125-8 mg/l
8016	GEN	Gentamycyna	0,5-32 mg/l
8017	LIZ	Linezolid	0,25-16 mg/l
8018	MER	Meropenem	0,125-8 mg/l
8019	NET	Netilmycyna	0,25-16 mg/l
8020	NFT	Nitrofurantoina	2-128 mg/l
8021	PEN	Penicylina	0,06-4 mg/l
8022	PIP	Piperacylina	2-128 mg/l
8023	PIT	Piperacylina / tazobaktam	2/4-128/4 mg/l
8024	T/S	Trimetoprim / sulfametoksazol	0,125/2,38-8/152 mg/l
8025	TEC	Teikoplanina	0,25-16 mg/l
8026	TET	Tetracyklina	0,125 – 8 mg/l
8027	TGC	Tigecyklina	0,06-4 mg/l
8028	TOB	Tobramycyna	0,125-8 mg/l
8029	VAN	Vankomycyna	0,25-16 mg/l

WYMAGANE ODCZYNNIKI I MATERIAŁY**Odczynniki :**

- Nośnik zawiesiny (Ref. 4001)
- Sterylny roztwór soli fizjologicznej

Materiał:

- Pipety, wymazówki, ezy, palnik, próbki and i inny sprzęt laboratoryjny.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Do użytku w diagnostyce in vitro i kontroli mikrobiologicznej

- **Wyłącznie do użytku profesjonalnego**
- **Należy dokładnie stosować się do instrukcji**

- Zużyte paski należy traktować jako potencjalnie zakaźne. Należy przestrzegać tego podczas użycia.
- Przestrzegać środków bezpieczeństwa zgodnie z obowiązującymi przepisami.
- Przed użyciem sprawdzić czy opakowanie nie jest uszkodzone. Nie używać uszkodzonych zestawów.

WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Przechowywać w temperaturze +2 do +25°C.

Data ważności jest umieszczona na każdym opakowaniu.

Niewykorzystane paski z płytki mikrotitracyjnej umieścić w aluminiowym opakowaniu, następnie je szczelnie zamknąć. Produkt może być przechowywany w suchych zaciemnionych warunkach, w temp. pokojowej przez 30 dni (lub do końca daty ważności).

PRÓBKİ

Oddzielić mikroorganizmy, które mają być zidentyfikowane, z odpowiedniego nieselektywnego podłoża hodowlanego wg. standardowych technik mikrobiologicznych.

ZAŁECANA PROCEDURA**Preparation of inoculum**

- Za pomocą ezy, pobrać dobrze wyizolowane kolonie z czystej 18-24 godz. hodowli i umieścić w próbówce ze sterylną solą fizjologiczną
- Przygotować jednorodną zawiesinę o mętności 0,5 McF.
- Inokulować 60 µl świeżo przygotowanej zawiesiny bakteryjnej do nośnika zawiesiny (nr. kat. 4001). Użyć zawiesiny zaraz po przygotowaniu

PRZYGOTOWANIE PŁYTEK MIKROTITRACYJNYCH

- Otworzyć aluminiowe opakowanie i oznaczyć paski numerami badanych kultur.

INOKULACJA

Inokulacja za pomocą pipety – inokulować 100 µl zawiesiny bakteryjnej do każdej studzienki paska.

INKUBACJA

Włożyć płytkę mikrotitracyjną do polietylenowego opakowania i zagać krawędź opakowania pod płytkę – dzięki temu uniknie się wyschnięcia zawiesiny bakteryjnej. Inkubować w temp. 35±1°C przez 16-20 godzin (zgodnie z EUCAST).

ODCZYT I INTERPRETACJA

Wyjąć płytkę mikrotitracyjną z polietylenowego opakowania i sprawdzić przyrost bakterii w mikrostudzienke K (wzrost kontroli). Powtórzyć test na wypadek otrzymania wyniku negatywnego mikrostudzienki K (niebieski / fioletowy). Odczytać zmiany koloru i porównać z kontrolą mikrostudzienki (K). **Wartość MIC to pierwsza mikrostudzienka z kolorem, która różni się od kontroli mikrostudzienki (K).** Odczytać test manualnie lub za pomocą czytnika. W przypadku zaopserwowania naprzemiennych mikrostudzienkach z wynikiem dodatnim i ujemnym, należy przyjąć wartość MIC w miejscu gdzie dwie mikrostudzienki z żędu są negatywne (efekt Eagle'a)

Ocena zmiany koloru

Przyrost bakterii	różowy
Brak przyrostu	niebieski / fioletowy

KONTROLA JAKOŚCI

Antybiotyki	skrót	ATCC 25922 <i>E. coli</i> CCM 3954	ATCC 27853 <i>P. aeruginosa</i> CCM 3955	ATCC 29213 <i>S. aureus</i> CCM 4223	ATCC 29212 <i>E. faecalis</i> CCM 4224
Amikacyna	AMK	0,5-4	1-4	1-4	-
Ampicylina	AMP	2-8	-	-	0,5-2
Ampicylina / sulbaktam	AMS	1-4	-	-	-
Aztreonam	AZT	0,06-0,25	2-8	-	-
Ceftazydym	CAZ	0,06-0,5	1-4	-	-
Cefepim	CEP	0,016-0,125	0,5-4	-	-
Cefazolin	CFZ	1-4	-	-	-
Ciprofloksacyna	CIP	0,004-0,016	0,25-1	0,125-0,5	0,25-2
Clindamycyna	CLI	-	-	0,06-0,25	-
Chloramfenikol	CMP	2-8	-	2-16	-
Kolistyna	COL	0,25-2	0,5-4	-	-
Cefoksytyna	COX	2-8	-	1-4	-
Cefoperazon / sulbaktam	CPS	0,125-0,5	-	-	-
Cefoperazon	CPZ	0,125-0,5	-	-	-
Cefotaxim	CTX	0,03-0,125	-	-	-
Cefuroksym	CXM	2-8	-	-	-
Ertapenem	ERT	0,004-0,016	-	-	-
Erytromycyna	ERY	-	-	0,25-1	-
Gentamycyna	GEN	0,25-1	0,5-2	0,125-1	4-16
Linezolid	LIZ	-	-	1-4	1-4
Meropenem	MER	0,008-0,06	0,25-1	-	-
Netilmycyna	NET	≤0,5-1	0,5-8	-	-
Nitrofurantoin	NFT	4-16	-	8-32	4-16
Norfloksacyna	NOR	0,03-0,125	-	0,5-2	2-8
Penicylina	PEN	-	-	0,25-2	-
Piperacylina	PIP	1-4	1-8	-	-
Piperacylina / tazobaktam	PIT	1-4	1-8	-	-
Trimetoprim / sulfametoksazol	T/S	≤0,5/9,5	-	-	-
Teikoplanina	TEC	-	-	0,25-1	0,25-1
Tetracyklina	TET	-	-	0,125-1	-
Tigecyklina	TGC	0,03-0,25	-	0,03-0,25	0,03-0,125
Tobramycyna	TOB	-	0,25-1	0,125-1	-
Wancomycyna	VAN	-	-	0,5-2	1-4


ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

CCM: Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University Brno, Kamenice 5, 625 00 Brno, +420549491430, e-mail: ccm@sci.muni.cz

POSTĘPOWANIE Z ODPADAMI

Postępować z materiałem jak w przypadku potencjalnie zakaźnego. Pozbyć się pozostałości zgodnie z obowiązującymi przepisami. Zestawy nie zawierają substancji niebezpiecznych

Ostatnia aktualizacja: 05.2. 2018

 **DIAGNOSTICS s.r.o.**,
Hodská 68, Galanta, 924 01, Slovakia
www.diagnostics.sk, e-mail: info@diagnostics.sk

Dystrybutor :
P.P.H.U. BOR-POL Mariusz Borkowski
pl. Jaśminu 2, 44-152 Gliwice
www.borpol.com.pl, e-mail : borpol@borpol.com.pl
tel. (32) 338-54-20, fax (32) 338-54-22



Nośnik zawiesziny

SM

**STRESZCZENIE I WYJAŚNIENIE**

Nośnik zawiesziny jest przeznaczony do przygotowania zawiesziny bakteryjnej do badań wrażliwości na środki przeciwdrobnoustrojowe – MIC. Produkt jest dostarczany w 12 ml probówkach. Każde opakowanie zawiera 50 probówek nośnika zawiesziny.

Szczegółowy opis pracy z nośnikiem zawiesziny i interpretacji wyników jest częścią instrukcji poszczególnego zestawu.

SKŁAD ZESTAWU

- 50 probówek nośnika zawiesziny
- ulotka informacyjna


ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Do użytku w diagnostyce in vitro i kontroli mikrobiologicznej.**
- **Wyłącznie do użytku profesjonalnego.**
- Należy dokładnie stosować się do instrukcji!
- Przestrzegać środków bezpieczeństwa zgodnie z obowiązującymi przepisami.
- Przed użyciem sprawdzić czy opakowanie nie jest uszkodzone. Nie używać uszkodzonych zestawów.
- Zestaw nie zawiera substancji niebezpiecznych.

WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Nośnik zawiesziny przechowywać w zaciemnionym pomieszczeniu w temp. od +2 do +8°C. Data ważności jest umieszczona na każdym opakowaniu.

Ostatnia aktualizacja: 05.02.2017

 DIAGNOSTICS s.r.o.,
Hodská 68, 924 01 Galanta, Slovenská republika
www.diagnostics.sk, e-mail: info@diagnostics.sk

Dystrybutor na terenie Polski: P.P.H.U. BOR-POL, pl. Jaśminu 2, 44-152 Gliwice
www.borpol.com.pl, e-mail : borpol@borpol.com.pl
tel. (32) 338-54-20, fax (32) 338-54-22



Nośnik zawiesziny

SM

**STRESZCZENIE I WYJAŚNIENIE**

Nośnik zawiesziny jest przeznaczony do przygotowania zawiesziny bakteryjnej do badań wrażliwości na środki przeciwdrobnoustrojowe – MIC. Produkt jest dostarczany w 12 ml probówkach. Każde opakowanie zawiera 50 probówek nośnika zawiesziny.

Szczegółowy opis pracy z nośnikiem zawiesziny i interpretacji wyników jest częścią instrukcji poszczególnego zestawu.

SKŁAD ZESTAWU

- 50 probówek nośnika zawiesziny
- ulotka informacyjna


ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Do użytku w diagnostyce in vitro i kontroli mikrobiologicznej.**
- **Wyłącznie do użytku profesjonalnego.**
- Należy dokładnie stosować się do instrukcji!
- Przestrzegać środków bezpieczeństwa zgodnie z obowiązującymi przepisami.
- Przed użyciem sprawdzić czy opakowanie nie jest uszkodzone. Nie używać uszkodzonych zestawów.
- Zestaw nie zawiera substancji niebezpiecznych.

WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Nośnik zawiesziny przechowywać w zaciemnionym pomieszczeniu w temp. od +2 do +8°C. Data ważności jest umieszczona na każdym opakowaniu.

Ostatnia aktualizacja: 05.02.2017

 DIAGNOSTICS s.r.o.,
Hodská 68, 924 01 Galanta, Slovenská republika
www.diagnostics.sk, e-mail: info@diagnostics.sk

Dystrybutor na terenie Polski: P.P.H.U. BOR-POL, pl. Jaśminu 2, 44-152 Gliwice
www.borpol.com.pl, e-mail : borpol@borpol.com.pl
tel. (32) 338-54-20, fax (32) 338-54-22

NADAL® Rota-Adenovirus Test (test cassette)

REF 481015N-20



DE	Gebrauchsanweisung	2	PL	Sposób użycia	22
EN	Instructions for use	6	PT	Instruções de Utilização	26
FR	Instructions d'utilisation	10	CZ	Návod k použití	30
ES	Instrucciones de uso	14	NO	Bruksanvisning	34
IT	Istruzioni per l'uso	18		Symbols	39
				Our Teams	40



1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® Rota-Adenovirus Test ist ein schneller visuell auswertbarer Immunassay für den qualitativen Nachweis von Rotaviren und Adenoviren in humanen Stuhlproben. Der Test sollte als Hilfsmittel zur Diagnose von Rota- und Adenovirusinfektionen eingesetzt werden. Er ist für die *in-vitro* diagnostische Anwendung durch professionelle Anwender ausgelegt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Rotaviren sind die häufigste Ursache für akute Gastroenteritis, besonders bei kleineren Kindern. Ihre Entdeckung und die Beschreibung des Zusammenhangs mit der Gastroenteritis bei Kleinkindern im Jahr 1973 stellte einen wichtigen Fortschritt für die Untersuchung nicht bakteriell verursachter Gastroenteritiden dar. Die Infektion mit Rotaviren erfolgt in der Regel oral-fäkal. Die Inkubationszeit beträgt 1-3 Tage. Auch wenn Stuhlproben, die während des zweiten bis fünften Tages nach Krankheitsausbruch entnommen werden, für den Antigennachweis besonders geeignet sind, sind Rotaviren auch noch nachweisbar, solange der Durchfall anhält. Bei Risikogruppen wie Säuglingen, älteren Menschen oder immungeschwächten Personen kann die Infektion einen tödlichen Verlauf nehmen. In den gemäßigten Klimazonen treten Rotavirusinfektionen hauptsächlich während der Wintermonate auf. Sowohl Endemien als auch Epidemien mit einigen tausend Betroffenen wurden beobachtet. Bei ca. 50% der Kinder, die mit einer akuten Gastroenteritis stationär behandelt wurden, konnten Rotaviren nachgewiesen werden. Die Viren replizieren sich im Zellkern und rufen einen charakteristischen cytopathischen Effekt (CPE) hervor. Da Rotaviren in Zellkulturen extrem schwer anzuzüchten sind, ist eine Isolierung des Virus für diagnostische Zwecke unüblich. Stattdessen wurden verschiedene andere Techniken entwickelt, die einen Nachweis von Rotaviren in Stuhlproben ermöglichen.

Akute Durchfallerkrankungen bei Kleinkindern sind eine der Hauptursachen für Morbidität weltweit und eine der häufigsten Ursachen für Sterblichkeit in Entwicklungsländern. Die Forschung hat gezeigt, dass enterale Adenoviren (wie Ad40 und Ad41) nach den Rotaviren am häufigsten Durchfallerkrankungen bei Kindern verursachen. Diese viralen Pathogene wurden in der ganzen Welt identifiziert und können ganzjährig Durchfallerkrankungen bei Kindern verursachen. Am häufigsten treten Infektionen bei Kindern unter zwei Jahren auf, es können jedoch Patienten jeder Altersgruppe betroffen sein. Weitere Studien haben gezeigt, dass Adenoviren mit ca. 4-15% aller hospitalisierten Fällen von viralen Gastroenteritiden verbunden sind. Eine schnelle und genaue Diagnose von Adenovirus bei Gastroenteritis ist für das Patientenmanagement und die ätiologische Aufklärung von Gastroenteritis hilfreich. Andere diagnostische Methoden wie Elektronenmikroskopie (EM) oder Nukleinsäurehybridisierung sind teuer und arbeitsintensiv. Da Adenovirusinfektionen in der Regel selbstlimitierend verlaufen, sind derartige Untersuchungen meist nicht erforderlich.

3. Testprinzip

Der NADAL® Rota-Adenovirus Test ist für den qualitativen Nachweis von Rotaviren und Adenoviren durch visuelle

Interpretation der Farbentwicklung im internen Streifen bestimmt.

Der Test weist Rotaviren bzw. Adenoviren mit Hilfe spezifischer Antikörper nach. Nach Zugabe der Probe (in Puffer verdünnter Stuhl) binden farbmarkierte Antikörper spezifisch an das jeweilige Virus, wenn es in der Probe vorliegt. Durch Kapillarkraft wandern die Virus-Antikörper-Komplexe die Membran entlang. Dort werden sie mit Hilfe weiterer spezifischer Antikörper gegen Rotavirus bzw. Adenovirus in den entsprechenden Testlinienbereichen abgefangen. Liegen Rotaviren in der Probe vor, bildet sich eine rote Testlinie neben der Beschriftung R aus. Liegen Adenoviren vor, erscheint eine rote Testlinie neben der Beschriftung A. Liegen beide Viren vor (Mischinfektion) werden beide Linien ausgeprägt. Liegen keine Rota- oder Adenoviren in der Stuhlprobe vor, können die farbmarkierten Antikörper an die virusspezifischen Antikörper in den Testlinienbereichen nicht binden. Es werden keine roten Linien ausgebildet. Die Anwesenheit einer roten Testlinie zeigt also ein positives Testergebnis an, wohingegen ihre Abwesenheit ein negatives Testergebnis anzeigt.

Als Kontrolle für eine korrekte Testdurchführung erscheint in der Kontrollregion C immer eine rote Linie. Diese zeigt an, dass das Probenvolumen ausreichend war und eine vollständige Benetzung der Membran mit der Flüssigkeit stattgefunden hat.

4. Bestandteile der Testpackung

- 20 einzeln versiegelte NADAL® Rota-Adenovirus Testkassetten
- 20 Probenahmeröhrchen mit Verdünnungspuffer für die Probenahme und -verdünnung
- 20 Einwegpipetten für die Entnahme extrem dünnflüssigen Probenmaterials
- 1 Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

Patient:

Hilfsmittel zum Sammeln einer Stuhlprobe. Dabei muss sichergestellt sein, dass die Probe keinen Kontakt zum Wasser der Toilettenschüssel hat, um eine Verdünnung bzw. eine Verunreinigung mit z.B. Reinigungsmitteln zu vermeiden. Auf Nachfrage können spezielle Stuhlfänger von der Firma nal von minden GmbH bezogen werden.

Arztpraxis oder Labor:

- Saugfähiges Papier zum Abbrechen der Spitze des Probenahmeröhrchens
- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Der Test sollte in der Verpackung entweder bei Raumtemperatur oder gekühlt (2-30°C) gelagert werden. Unter diesen Bedingungen sind Testkassetten und Puffer bis zu dem angegebenen Verfallsdatum stabil. Die Testkassetten sollten bis zur Anwendung zusammen mit dem Trockenmittel in dem versiegelten Schutzbeutel verbleiben.

Nicht einfrieren.

Nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums verwenden.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den *in-vitro* diagnostischen Gebrauch durch professionelle Anwender.
- Für den einmaligen Gebrauch. Tests nicht wieder verwenden.
- Reagenzien unterschiedlicher Kits nicht mischen oder austauschen.
- Test nicht benutzen, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Test nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums verwenden.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Sanitärzustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Vermeiden Sie eine Kreuzkontamination der Proben, indem Sie für jede Probe einen neuen Probenbehälter verwenden.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit den Proben oder Tests umgegangen wird. Während des gesamten Tests bewährte Vorsichtsmaßnahmen gegen mikrobiologische Gefahren beachten und bei der Probenentsorgung Standardverfahren einhalten. Tragen Sie Schutzkleidung wie Laborkittel, Einweghandschuhe oder Schutzbrille, wenn Proben getestet werden.
- Der Verdünnungspuffer enthält geringe Mengen Natriumazid, das mit Blei- oder Kupferrohren reagieren und explosive Metallazide bilden kann. Spülen Sie bei der Entsorgung der Extraktionslösung und der extrahierten Proben über den Abfluss immer mit reichlich Wasser nach, um eine Azidbildung zu verhindern.
- Feuchtigkeit und Temperatur können das Testergebnis negativ beeinträchtigen.
- Von den Testkomponenten (z. B. Antikörper, Chemikalien) geht bei sachgerechter Anwendung keine Gefahr aus.
- Bitte folgen Sie den Anweisungen der Anleitung genau. Informieren Sie ihre Patienten gründlich, wie das Sammeln der Stuhlprobe und die Verdünnung erfolgen soll.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Bedingungen für eine optimale Probennahme

Der NADAL® Rota-Adenovirus Test ist nur für den Gebrauch mit humanen Stuhlproben geeignet, die in dem mitgelieferten Puffer verdünnt wurden.

Der Virusnachweis gelingt am besten, wenn die Probe kurz nach dem Einsetzen der Krankheitssymptome genommen wird. Die maximale Ausscheidung von Rotaviren im Stuhl von Patienten mit Gastroenteritis erfolgt zwischen dem 2. und 5. Tag nach Einsetzen der Krankheitssymptome. Für Adenoviren ist die maximale Ausscheidung 3 bis 13 Tage nach Krankheitsausbruch am stärksten. Wenn Proben erst sehr spät nach Einsetzen von Durchfall gesammelt werden, ist es möglich, dass die Antigenmenge für eine positive Reaktion nicht ausreichend ist oder dass Antigene nachgewiesen werden, die nicht mit der Durchfallerkrankung im Zusammenhang stehen.

Stuhlproben sollten sofort nach der Entnahme bei 2-8°C gelagert und innerhalb von 48 Stunden untersucht oder eingefroren bei -20°C gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist wegen der Gefahr fehlerhafter Resultate zu vermeiden.

Probennahme und Aufbereitung durch den Patienten

Für die Probennahme erhält der Patient ein Probenahmeröhrchen und eine Einwegpipette. Bitte weisen Sie den Patienten an, die Stuhlprobe wie folgt zu entnehmen:

1. Jeder saubere und trockene Behälter oder auch wasserabweisendes Papier kann für die Probennahme verwendet werden. Bitte stellen Sie sicher, dass die Stuhlprobe nicht mit dem Wasser der Toilettenschüssel in Berührung kommt, um eine Verdünnung der Stuhlprobe oder eine Verunreinigung mit z.B. Reinigungsmitteln zu vermeiden. 1-2 ml bzw. 1-2 g Stuhl reichen aus.
2. Geben Sie eine kleine Menge der Stuhlprobe in das Probenahmeröhrchen:



Bei festen Stuhlproben:

Schrauben Sie den Deckel des Probenahmeröhrchens ab. Stechen Sie den Spiralstab an drei verschiedenen Stellen in die Stuhlprobe und nehmen Sie auf diese Weise ca. 50 mg Stuhl auf (dies entspricht ungefähr ¼ Erbse).



Bei flüssigen Stuhlproben:

Wenn der Stuhl zu dünnflüssig ist, um am Spiralstab hängen zu bleiben, verwenden Sie bitte die beigegefügte Einwegpipette. Halten Sie die Pipette senkrecht, saugen Sie ein wenig Stuhl auf und überführen Sie zwei Tropfen (ungefähr 50 µl) in das Probenahmeröhrchen mit dem Verdünnungspuffer.



3. Geben Sie den Spiralstab zurück ins Röhrchen und verschließen Sie dieses fest.
4. Schütteln Sie das Probenahmeröhrchen, damit sich Stuhlprobe und Puffer gut vermischen. Seien Sie vorsichtig, dass die Spitze des Röhrchens nicht abbricht.
5. Geben Sie das Röhrchen in eine Plastiktüte und lagern Sie es an einem kühlen Ort. Bringen Sie die Probe innerhalb der nächsten 24 Stunden zu Ihrer Arztpraxis.

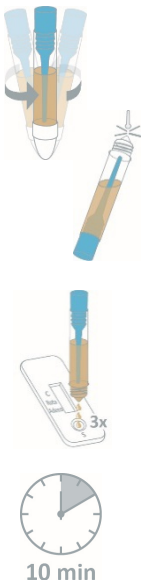


Hinweis:

Wenn sich der Patient bei der Verdünnung der Stuhlprobe in das Probenahmeröhrchen unsicher fühlt, kann er auch eine unbehandelte Stuhlprobe in der Arztpraxis abgeben. Der Transfer der Probe in den Puffer des Röhrchens kann dann wie oben beschrieben vom Personal der Arztpraxis oder des Labors durchgeführt werden.

9. Testdurchführung

1. Bringen Sie die versiegelte Testkassette und die Patientenprobe vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).
 2. Entnehmen Sie die Testkassette erst aus dem Beutel, wenn Sie bereit sind, den Test durchzuführen. Die Testkassette sollte Raumtemperatur haben, um eine Kondensation von Feuchtigkeit auf der Membran zu vermeiden. Kennzeichnen Sie die Testkassette für Identifikationszwecke mit einer Patienten- oder Kontrollnummer.
 3. Schütteln Sie das Probensammelröhrchen gründlich, um eine einwandfreie Durchmischung der Stuhlprobe mit der Pufferlösung sicherzustellen.
 4. Brechen Sie mit Hilfe eines saugfähigen Papiers die Spitze des Deckels ab.
 5. Halten Sie das Röhrchen senkrecht und geben Sie 2-3 Tropfen der Flüssigkeit in die runde Probenvertiefung (S) der Testkassette, indem Sie einen leichten Druck auf die Wände des Röhrchens ausüben. Luftblasen in der Probenvertiefung (S) oder Spritzer in das rechteckige Ergebnisfenster sollten vermieden werden.
 6. Starten Sie den Timer. Sie können zu Beginn des Testablaufs beobachten, wie die rötlich gefärbte Flüssigkeitsfront die Membran hoch wandert.
- Warten Sie bis die farbige(n) Linie(n) erscheinen. Das Ergebnis sollte nach 10 Minuten abgelesen werden. Stark positive Ergebnisse können eventuell schon eher sichtbar sein. Bitte lesen Sie das Ergebnis nicht später als 20 Minuten nach Probengabe ab.



schwach gefärbte Testlinien sollten deswegen als positives Ergebnis gewertet werden. Bitte versuchen Sie nicht über die Farbintensität der Linien die Antigenmenge zu quantifizieren. Der Test ist als qualitativer Test ausgelegt.

Negatives Ergebnis:

Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C). In den Testlinienbereichen für Rotavirus (R) bzw. Adenovirus (A) sind keine Linien zu erkennen.



Ungültiges Testergebnis

Die Kontrolllinie wird nicht ausgebildet. Ergebnisse von Tests, bei denen die Kontrolllinie nicht innerhalb der vorgegebenen Zeit erscheint, dürfen nicht ausgewertet werden.



Die häufigsten Ursachen für eine fehlende Kontrolllinie sind unzureichendes Probenvolumen, unzureichende Migration der Probe oder Fehler in der Testdurchführung. Überprüfen Sie die Durchführung auf mögliche Fehler und wiederholen Sie den Test. Wenn das Laufverhalten durch sichtbare Partikel im Probenmaterial behindert wird, sollten diese vorher durch Zentrifugation oder Sedimentation entfernt werden. Überführen Sie einen Teil der Probe in ein neues Röhrchen, sedimentieren Sie die Partikel durch eine kurze Zentrifugation und pipettieren Sie 80-120 µl des Überstands in die Probenvertiefung einer neuen Testkassette. Alternativ kann das Röhrchen in aufrechter Position für eine Zeit gelagert werden, bis sich die Partikel abgesetzt haben. Anschließend werden 80-120 µl von der Oberfläche der Flüssigkeit für die Testung entnommen. Wenn das Problem bestehen bleibt, sollten Sie den Test vorerst nicht weiter benutzen und Ihren Distributor kontaktieren.

Hinweis:

Beim Testen verdünnter Stuhlproben kann der Hintergrund aufgrund der Eigenfärbung des Stuhls gelblich erscheinen. Solange die Farbe das Ablesen des Ergebnisses nicht behindert, ist dies akzeptabel. Der Test ist ungültig, wenn der Hintergrund nicht klar wird und das Ablesen des Testergebnisses beeinträchtigt.

10. Testauswertung

Um das Testergebnis abzulesen, werten Sie bitte die farbigen Linien aus, die im Testfenster erschienen sind:

Positives Testergebnis für Rotavirus, Adenovirus oder beide Viren

Positiv für Rotavirus:

Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C). Eine weitere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich für Rotavirus (R).



Positiv für Adenovirus:

Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C). Eine weitere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich für Adenovirus (A).



Positiv für Rotavirus und Adenovirus:

Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C). Es erscheint jeweils eine farbige Linie in den Testlinienbereichen für Rotavirus (R) bzw. Adenovirus (A).



Hinweis:

Die Farbintensität der Testlinien (R/A) hängt von der Antigenkonzentration in dem Probenmaterial ab. Auch

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle. Eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich (C) zeigt an, dass der Test richtig durchgeführt wurde. Ihr Erscheinen bestätigt ein ausreichendes Probenvolumen, eine vollständige Benetzung der Membran und eine korrekte Testdurchführung.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Rota-Adenovirus Test ist nur für den *in-vitro* diagnostischen Gebrauch durch professionelle Anwender ausgelegt und sollte ausschließlich für den qualitativen Nachweis von Rota- und Adenoviren verwendet werden.
- Wie bei allen Schnelltests sollte das Testergebnis nicht als alleinige Grundlage einer Diagnose dienen, sondern sollte vor dem Hintergrund aller klinischen Befunde und Untersuchungsdaten durch einen Arzt bewertet und ggf. durch weitere Untersuchungen bestätigt werden.

- Hält im Falle eines negativen Testergebnisses die klinische Symptomatik an, sollten zusätzlich andere klinische Methoden zur Abklärung verwendet werden. Ein negatives Testergebnis schließt zu keiner Zeit die Möglichkeit einer Rota- oder Adenovirusinfektion aus.
- Ein positives Testergebnis bei Neugeborenen muss durch eine alternative Testmethode (PCR) bestätigt werden, um Pseudoausbrüche („pseudo-outbreaks“) zu verhindern.
- Bei sichtbarem Blut in Stuhlproben können falsch-positive Ergebnisse nicht ausgeschlossen werden und müssen daher mit einer alternativen Testmethode überprüft werden.

13. Leistungsmerkmale des Tests

Die Leistung des NADAL® Rota-Adenovirus Tests (Adenovirus) wurde mit 210 klinischen Proben von Kindern und jungen Erwachsenen im Vergleich zum ELISA bewertet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle: NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	Total	82	128	210

Relative Sensitivität: >98,8%

Relative Spezifität: >99,9%

Gesamtübereinstimmung: >99,5%

Die Leistung des NADAL® Rota-Adenovirus Tests (Rotavirus) wurde mit 242 klinischen Proben von Kindern und jungen Erwachsenen im Vergleich zum ELISA bewertet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle: NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	Total	79	163	242

Relative Sensitivität: >96,3%

Relative Spezifität: >99,9%

Gesamtübereinstimmung: >98,8%

Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität mit unten aufgelisteten Organismen wurde mit einer Konzentration von $1,0 \times 10^9$ Organismen/ml untersucht. Diese Proben wurden mit dem NADAL® Rota-Adenovirus Test getestet und für negativ befunden.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Group C <i>Streptococcus</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Gardnerella vaginalis

Salmonella choleraesuis

Group B *Streptococcus*

Staphylococcus aureus

14. Referenzen

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelm I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411-1413

Rev. 2, 2019-05-23 OM

1. Intended Use

The NADAL® Rota-Adenovirus Test is a rapid visual immune-assay for the qualitative detection of rotavirus and adenovirus in human faecal specimens. This test is intended to be used as an aid in the diagnosis of rotavirus and adenovirus infections. The test is designed for professional *in-vitro* diagnostic use only.

2. Introduction and Clinical Significance

Rotavirus is the most common pathogen responsible for acute gastroenteritis, mainly in young children. Its discovery in 1973 and association with infantile gastroenteritis represented a very important advancement in the study of acute non-bacterial gastroenteritis. Rotavirus is transmitted by the oro-faecal route with an incubation period of 1-3 days. Although specimens collected between the second and the fifth day of illness are ideal for antigen detection, rotavirus may still be detected while diarrhoea continues. Rotaviral gastroenteritis may result in mortality for populations at risk such as infants, the elderly and immunocompromised patients. In moderate climates, rotaviral infections occur mainly in the winter months. Endemics and epidemics affecting thousands of people have been reported. Up to 50% of the analysed specimens from hospitalised children suffering from acute enteric disease were positive for rotavirus. The viruses replicate in the cell nucleus and tend to produce a characteristic cytopathic effect (CPE). Because rotavirus is extremely difficult to culture, it is unusual to isolate the virus for the diagnosis of infection. Instead, a variety of techniques have been developed to detect rotavirus in feces.

Acute diarrheal disease in young children is a major cause of morbidity worldwide and is a leading cause of mortality in developing countries. Research has shown that enteric adenoviruses, such as Ad40 and Ad41, are also one of the primary causes of diarrhoea in children, second only to rotaviruses. These viral pathogens have been identified throughout the world and can cause diarrhoea in children all year round. Infections are most frequently seen in children less than two years of age, but have also been found in patients of all ages. Further studies indicate that adenoviruses are associated with 4-15% of all hospitalized cases of viral gastroenteritis.

Rapid and accurate diagnosis of gastroenteritis caused by adenovirus is helpful in establishing the etiology of gastroenteritis and related patient management. Other diagnostic techniques such as electron microscopy (EM) and nucleic acid hybridization are expensive and labor-intensive. Due to the self-limited nature of adenoviral infection, such expensive and labor-intensive tests may not be necessary.

3. Test Principle

The NADAL® Rota-Adenovirus Test is designed to detect rotavirus and adenovirus through visual interpretation of color development in the internal strip.

In this assay Rotavirus and Adenovirus are detected with the aid of specific antibodies. After the addition of sample (feces diluted in buffer) the color-labelled antibodies will specifically bind to the respective virus if it is present in the sample. When these antibody-virus complexes migrate along the membrane by capillary action, they are captured by another antibody

specific against Rotavirus or Adenovirus in the test line regions for the respective virus. If rotavirus is present in the sample a red test line is developed in the "R" marked region. If adenovirus is present in the sample a red test line will develop in the "A" marked region. If both viruses are present (mixed infection) two test lines will develop. If no virus is present, the color-labelled antibody will not bind to the virus specific antibodies in the test line regions. No red test lines are formed. So the presence of a red test line indicates a positive result, while its absence indicates a negative result.

To serve as a procedural control, a red line will always develop in the control line region indicating that proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 20 individually pouched NADAL® Rota-Adenovirus Test cassettes
- 20 specimen collection tubes with specimen diluent buffer for sample collection and dilution
- 20 disposable pipettes for sample collection of extremely liquid specimen
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

Patient:

Means to collect a stool sample.

It should be ensured that samples have no contact with the water in the toilet bowl in order to avoid dilution or contamination with e. g. detergents. Special stool collection units can be provided by nal von minden GmbH on request.

Clinic or lab:

- Tissue paper for breaking the tip of the specimen collection tube
- Timer

6. Storage & Stability

Store the test as packaged either at room temperature or refrigerated (2-30°C).

Under these conditions the test cassette and specimen diluent buffer are stable until the expiration date. The test cassette should remain in the sealed pouch containing a desiccant until use.

Do not freeze.

Do not use beyond the expiration date.

7. Warnings and Precautions

- For *in-vitro* diagnostic use by professionals only.
- For single use. Do not reuse tests.
- Do not interchange or mix reagents from different lots.
- Do not use the test if its foil pouch is damaged.
- Do not use the test after the expiration date.
- This test contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled by observing usual safety precautions (e.g. do not ingest or inhale).

- Avoid cross-contamination of specimens by using a new specimen collection container for each specimen obtained.
- Do not eat, drink or smoke in the area where the specimens or kits are handled. Protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection are recommended. Observe established precautions against microbiological hazards throughout testing. Follow standard procedures for proper disposal of specimens in accordance with local regulations.
- The specimen diluent buffer contains a small amount of sodium azide which may react with lead or copper plumbing to form potentially explosive metal azides. When disposing of extraction solution or extracted samples, always flush with copious quantities of water to prevent azide buildup.
- Humidity and temperature can adversely affect results.
- The components of the test (e.g. antibodies/chemicals) do not cause any danger if the test is used according to the instructions.
- Follow the instructions for use carefully. Inform the patients of the procedures of the collection and dilution of the stool sample.

8. Specimen Collection and Preparation

Conditions for optimal sample collection

The NADAL® Rota-Adenovirus Test is only intended for use with human faecal specimen that has been diluted in the provided buffer.

Viral detection is facilitated by collecting specimens at the onset of diarrheic symptoms. It has been reported that the maximum excretion of rotavirus in the feces of patients with gastroenteritis occurs 2-5 days after the onset of symptoms. For adenovirus maximum excretion is about 3-13 days after onset of symptoms. If the specimens are collected long after the onset of diarrheic symptoms, the quantity of antigen may not be sufficient to obtain a positive result or the antigens detected may not be linked to the diarrheic episode.

Stool samples should be stored at 2-8°C immediately after collection and processed within 48 hours. Longer storage is possible at -20°C. Repeated freezing and thawing of samples should be avoided.

Specimen collection and preparation by the patient

For stool sample collection, the patient is given one of the specimen collection tubes of the test set and a disposable pipette. Stool sample should be collected in the following way:

1. Any clean and dry container or water repellent paper can be used for sample collection. Ensure that the stool sample has no direct contact with the water of the toilet bowl to avoid dilution or contamination with detergents. An amount of 1-2 ml or 1-2 g stool is sufficient.
2. Transfer a small amount of the stool into the specimen collection tube:



For solid specimens:

Unscrew the cap of the specimen collection tube, then randomly insert the specimen collection applicator into at least 3 different sites of the faecal specimen to collect



approximately 50 mg of feces (equivalent to 1/4 of a pea).

For liquid specimens:

If the stool is too liquid to stick to the applicator, the provided disposable pipette can be used. Hold the pipette vertically, aspirate some stool, and then transfer 2 drops (approximately 50 µl) into the specimen collection tube containing the diluent buffer.



3. Place the applicator back into the tube and screw the cap tightly.
4. Shake the specimen collection tube to mix the specimen and the dilution buffer. Be careful not to break the tip of the collection tube.
5. Wrap the specimen collection tube in a plastic bag. Store it in a cool place and return it to the clinic within 24 hours.

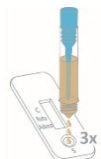


Note:

If the patient feels uncomfortable to dilute the stool specimen in the collection tube himself, he may return a container with the unprocessed stool sample to the clinic. The transfer of the specimen into the buffer of the specimen collection tube can then be carried out as described above by the personnel of the clinic or lab.

9. Test Procedure

1. Allow the test device and the diluted stool sample to reach room temperature (15-30°C) prior to testing.
2. Remove the test cassette from its pouch when ready to perform the test. The test cassette must be at room temperature to prevent condensation of moisture on the membrane. Label the test cassette on the provided space with patient or control identification.
3. Shake the collection tube thoroughly to ensure proper mixing of the faecal sample with the diluent buffer.
4. Using a piece of tissue paper, break the tip of the collection tube with a twisting motion.
5. Hold the collection tube vertically and dispense 2-3 drops of solution into the round sample well (S) of the test cassette by applying a gentle pressure to the walls of the tube. Avoid air bubbles in the sample well or splashes of liquid into the rectangular result window.
6. Start the timer. As the test begins to work, a reddish colored liquid front will be seen moving across the membrane.



Wait for the colored line(s) to appear. The result should be read after 10 minutes. Strong positive results may be observed sooner. Do not interpret the result after 20 minutes.

10. Result Interpretation

For reading of the test results, the colored lines that develop in the test result window are interpreted.

Positive result for Rotavirus, Adenovirus or both viruses

Rotavirus Positive:

A colored line develops in the control line region (C) and another colored line develops in test line region for Rotavirus (R).



Adenovirus Positive:

A colored line develops in the control line region (C) and another colored line develops in test line region for Adenovirus (A).



Rotavirus and Adenovirus Positive:

A colored line develops in the control line region (C) and two other colored lines develop in the test line regions for Rotavirus (R) and Adenovirus (A), respectively.



Note:

The intensity of the color in the test line regions (R/A) may vary depending on the concentration of the target antigens present in the specimen. Therefore, any shade of color in the test region should be considered positive. Besides, the amount of virus can not be determined by this qualitative test.

Negative result:

One colored line develops in the control line region (C). No line develops in the test line regions for Rotavirus and Adenovirus.



Invalid result:

The control line (C) fails to develop. Results from any test which has not produced a control line at the specified reading time must be discarded. Please review the procedure and repeat with a new test. If the problem persists, discontinue using the test set immediately and contact your distributor.



Insufficient specimen volume, insufficient specimen migration, or incorrect procedural techniques are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the presence of visible particles inhibited the specimen migration, they should be removed by centrifugation or sedimentation. Transfer a part of the sample into a tube, sediment the particles by a brief centrifugation and pipette approximately 80-120 µl of the supernatant into the sample well of a new test cassette. Alternatively allow the particles to settle in the upright specimen collection tube and use 80-120 µl from the topside of the liquid. If the problem persists, discontinue using the test immediately and contact your local distributor.

Note: When faecal samples are tested, the background may appear slightly yellowish due to the color of the faecal samples. This is acceptable as long as it does not interfere with

the interpretation of the test result. The test is invalid if the background fails to clear and obscures the reading of the result.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette. A colored line appearing in the control line region (C) is an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

12. Limitations

- The NADAL® Rota-Adenovirus Test is for professional *in-vitro* diagnostic use, and should be used for qualitative detection of rotavirus and adenovirus only.
- As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the result of a single test, but should be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.
- If the test result is negative but clinical symptoms persist, additional testing using other clinical methods is recommended. A negative result does not at any time preclude the possibility of rotavirus or adenovirus infection.
- In order to prevent pseudo-outbreaks, positive test results in newborns must be confirmed using an alternative testing method (PCR).
- If visible blood is present in faecal specimens, false-positive results cannot be ruled out and must therefore be verified using an alternative test method.

13. Performance Characteristics

The performance of the NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus) has been evaluated with 210 clinical specimens collected from children and young adults in comparison with ELISA. The results are summarised in the following table:

Table: NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	Total	82	128	210

Relative sensitivity: >98.8%

Relative specificity: >99.9%

Overall agreement: >99.5%

The performance of the NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus) has been evaluated with 242 clinical specimens collected from children and young adults in comparison with ELISA. The results are summarised in the following table:

Table: NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	Total	79	163	242

Relative sensitivity: >96.3%

Relative specificity: >99.9%

Overall agreement: >98.8%

Cross-reactivity

Cross-reactivity with the organisms listed below has been studied at 1.0×10^9 organisms/ml. These samples were found negative when tested with the NADAL® Rota-Adenovirus Test.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Group C Streptococcus
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
Group B Streptococcus	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. References

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 FS

1. Domaine d'application

Le test NADAL® Rota-Adenovirus est un immunodosage rapide à interprétation visuelle pour la détection qualitative de rotavirus et d'adénovirus dans les selles humaines. Ce test doit être utilisé comme aide au diagnostic d'infections à rotavirus ou adénovirus. Il est conçu pour le diagnostic *in-vitro* par des professionnels.

2. Introduction et signification diagnostique

Les rotavirus sont la cause la plus fréquente de gastro-entérite aiguë surtout chez les enfants en bas âge. Leur découverte et la description de leur rapport à la gastro-entérite chez les enfants en bas âge en 1973 représenta une avancée importante pour l'analyse de gastro-entérites non bactériennes. L'infection à rotavirus se fait en général par voie orale. Le temps d'incubation est de 1-3 jours. Les selles recueillies dans les deux à cinq jours après l'apparition de la maladie sont particulièrement adaptées à la recherche antigénique même si les rotavirus peuvent être détectés encore plus tard. L'infection peut prendre une tournure mortelle pour les groupes à risque comme les nourrissons, les personnes âgées ou les sujets immunodéprimés. Dans les zones tempérées, les infections à rotavirus apparaissent surtout pendant les mois d'hiver. Des endémies ainsi que des épidémies avec quelques milliers de personnes atteintes ont été observées. Des rotavirus ont été détectés dans 50% des cas d'enfants traités en hôpital avec une gastro-entérite aiguë. Les virus se multiplient dans le nucléus, ont des hôtes bien spécifiques et provoquent un effet cytopathique caractéristique (CPE). Comme il est extrêmement difficile d'obtenir des rotavirus par culture cellulaire, il est impossible d'isoler le virus pour le diagnostiquer. Au lieu de cela, des techniques différentes ont été développées afin de permettre la détection des rotavirus dans les selles.

Après les rotavirus, les adénovirus (principalement Ad40 et Ad41) provoquent le plus fréquemment des diarrhées chez les enfants. Dans les pays en voie de développement, les diarrhées aiguës représentent l'une des causes majeures de mortalité infantile. Les infections touchent le plus souvent des enfants de moins de deux ans mais elles peuvent cependant toucher des patients de toutes les classes d'âges. Des études ont montré qu'environ 4-15% de toutes les gastro-entérites virales traitées en hôpital sont associées à des adénovirus. Un diagnostic rapide et précis d'adénovirus en cas de gastro-entérites est une aide pour la gestion des patients et l'étiologie de la maladie. D'autres méthodes diagnostiques comme la microscopie électronique ou l'hybridation moléculaire sont très coûteuses et demandent beaucoup de travail. Comme les infections à adénovirus sont en général à guérison spontanée, des examens de ce type ne sont souvent pas nécessaires.

Le test NADAL® Rota-Adenovirus est un test rapide pour la détection qualitative simultanée des rotavirus et/ou d'adénovirus. Le résultat du test peut être lu après 10 minutes.

3. Principe du test

Le test NADAL® Rota-Adenovirus permet la détection des rotavirus et adénovirus par l'interprétation du développement de lignes colorées.

Le test détecte les rotavirus et les adénovirus à l'aide d'anticorps spécifiques. Après l'ajout de l'échantillon (selles diluées dans une solution tampon), des anticorps colorés spécifiques à chacun des virus se lient lorsque ceux-ci sont présents dans l'échantillon. Les complexes virus-anticorps migrent le long de la membrane par capillarité. Ils sont alors interceptés sur la zone de test correspondante à l'aide d'autres anticorps spécifiques aux rotavirus ou aux adénovirus. Si des rotavirus sont présents dans l'échantillon, une ligne rouge apparaît à côté de l'inscription R. Si des adénovirus sont présents, une ligne rouge apparaît à côté de l'inscription A. Si les deux virus sont présents (infection croisée), les deux lignes apparaissent. Si aucun rotavirus ou adénovirus n'est présent dans les selles, les anticorps colorés ne peuvent pas se lier dans les zones de test. Aucune ligne rouge n'apparaît. La présence d'une ligne de test rouge indique alors un résultat positif, tandis que son absence indique un résultat négatif.

Pour contrôler l'exécution parfaite du test, une ligne rouge apparaît toujours dans la zone de contrôle C. Celle-ci indique que le volume d'échantillon était suffisant et que la membrane a complètement été imbibée du fluide.

4. Réactifs et matériel fournis

- 20 cassettes NADAL® Rota-Adenovirus emballées individuellement
- 20 tubes collecteurs avec solution tampon pour le recueil et la dilution des échantillons
- 20 pipettes à usage unique pour le recueil d'échantillons trop liquides.
- 1 notice d'utilisation

5. Matériel supplémentaire nécessaire

Patient :

Aide pour la collecte des selles. Il faut s'assurer ici que l'échantillon n'a pas été en contact avec l'eau des toilettes pour éviter sa dilution ou sa contamination avec des produits d'entretien. Sur demande, il est possible d'obtenir des collecteurs de selles spéciaux auprès de la société nal von minden GmbH.

Cabinet médical ou laboratoire :

- Papier absorbant pour casser le bout du tube de collecte de l'échantillon
- Chronomètre

6. Conservation et stockage des réactifs

Le kit doit être conservé dans son emballage à température ambiante ou au réfrigérateur (2-30°C).

Dans ces conditions, les cassettes et les solutions tampons restent stables jusqu'à la date de péremption. Les cassettes doivent rester emballées avec l'agent déshydratant jusqu'à leur utilisation.

Ne pas congeler.

Ne pas utiliser après expiration de la date limite de conservation.

7. Avertissements et précautions

- Uniquement pour une utilisation diagnostique *in-vitro* par des professionnels.
- Usage unique. Ne pas réutiliser les tests.

- Ne pas mélanger ou échanger des réactifs de kits différents.
- Ne pas utiliser le test si son emballage est endommagé.
- Ne pas utiliser après expiration de la date limite de conservation.
- Ce kit contient des produits d'origine animale. Les connaissances certifiées de l'origine et / ou de l'état sanitaire des animaux ne garantissent pas totalement l'absence d'agents pathogènes transmissibles. Il est donc recommandé de considérer ces produits comme potentiellement infectieux et de les traiter selon les consignes de sécurité habituelles (par exemple, éviter l'ingestion ou l'inhalation).
- Pour chaque échantillon de selles, utiliser un nouveau collecteur de selles afin d'éviter une contamination croisée.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone où les échantillons sont manipulés. Des vêtements de protection comme une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et des lunettes de protection sont nécessaires. Respecter les mesures de précautions relatives à la manipulation de matières biologiques dangereuses et prendre des mesures préventives adéquates pour l'élimination selon les directives régionales.
- La solution d'extraction contient de l'azote de sodium en petite quantité, ce qui peut réagir avec du plomb ou du cuivre pour former des azides métalliques hautement explosifs. Toujours rincer la solution d'extraction avant de la jeter, ainsi que les échantillons prélevés, et ce, avec beaucoup d'eau afin d'éviter l'accumulation d'azides
- L'humidité et la température peuvent altérer le résultat du test.
- Les composants du test (les anticorps, les produits chimiques) ne représentent aucun danger si leur utilisation est conforme.
- Suivre scrupuleusement les instructions de la notice. Expliquer précisément aux patients comment recueillir et diluer les selles.

8. Recueil, préparation et conservation des échantillons

Conditions pour un recueil optimal des échantillons

Le test NADAL® Rota-Adenovirus est conçu uniquement pour une utilisation avec des selles humaines diluées avec le tampon fourni.

La détection du virus réussit au mieux lorsque l'échantillon a été recueilli juste après l'apparition des symptômes de la maladie. L'élimination maximale des rotavirus se fait entre le 2ème et le 5ème jour après l'apparition des symptômes de la maladie. Pour les adénovirus, l'élimination est plus forte 3 à 13 jours après l'apparition de la maladie. Lorsque les échantillons sont recueillis longtemps après l'apparition des symptômes, il est possible que la quantité d'antigènes ne soit pas suffisante pour une réaction positive ou que des antigènes sans rapport avec la diarrhée soient détectés.

Les selles doivent être conservées à 2-8°C immédiatement après leur collecte et analysées dans les 48 h ou congelées à -20°C. Il est déconseillé de congeler et décongeler les échantillons de manière répétitive afin d'éviter des résultats erronés.

Recueil et préparation de l'échantillon par le patient

Pour le recueil de l'échantillon, le patient reçoit un tube collecteur et une pipette à usage unique. Le patient doit absolument recueillir les selles de la manière suivante:

1. Tout récipient ou papier hydrofuge propre et sec peut servir au recueil de l'échantillon. S'assurer que les selles n'entrent pas en contact avec l'eau de la cuvette des toilettes afin d'éviter une dilution des selles ou leur contamination par des produits d'entretien. 1-2 ml ou 1-2 g de selles suffisent.
2. Déposer un peu de selles dans le tube collecteur:



Pour des selles solides :

Dévisser le couvercle du tube collecteur. Piquer les selles en trois endroits différents avec la spirale et recueillir ainsi environ 50 mg de selles (cela correspond à ¼ de petit pois).



Pour des selles liquides :

Si les selles sont trop fluides pour rester collées à la spirale, utiliser la pipette à usage unique fournie. Maintenir la pipette à la verticale, aspirer un peu de selles et transférer deux gouttes (environ 50 µl) dans le tube collecteur avec la solution tampon.



3. Remettre la spirale dans le tube et bien refermer celui-ci.
4. Secouer le tube collecteur pour que les selles et le tampon se mélangent bien. Attention: ne pas casser le bout du tube.
5. Mettre le tube dans un sac plastique et le conserver dans un endroit frais (réfrigérateur). Amener l'échantillon au cabinet médical dans les 24 heures.

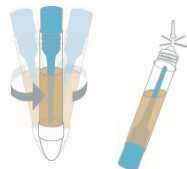


Remarque :

Si le patient ne se sent pas capable de diluer les selles dans le tube collecteur, il peut aussi amener des selles non traitées au cabinet de son médecin. Le transfert de l'échantillon dans le tampon du tube peut alors être effectué comme ci-dessus par le personnel du cabinet médical ou du laboratoire.

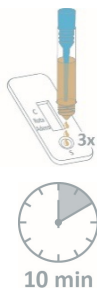
9. Exécution du test

1. Avant de débiter le test, amener la cassette emballée et l'échantillon du patient à température ambiante (15°C à 30°C).
2. Sortir la cassette de son emballage juste avant de procéder au test. La cassette doit être à température ambiante afin d'éviter une condensation de l'humidité sur la membrane. Indiquer un numéro de patient ou de contrôle sur la cassette pour pouvoir l'identifier.
3. Bien secouer le tube collecteur pour garantir un mélange parfait des selles et de la solution tampon.
4. Casser le bout du tube à l'aide d'un papier absorbant.



5. Maintenir le tube à la verticale et mettre 2-3 gouttes du liquide dans le puits de dépôt (S) de la cassette en exerçant une petite pression sur les côtés du tube. Il faut éviter la formation de bulles d'air dans le puits de dépôt ou des éclaboussures dans la fenêtre de résultat rectangulaire.

6. Lancer le chronométrage. Il est possible d'observer la migration du fluide rouge le long de la membrane.
Attendre jusqu'à l'apparition de la/des ligne(s) colorée(s). Lire le résultat après 10 minutes. Les résultats fortement positifs peuvent éventuellement être lus bien avant. Ne plus lire le résultat après plus de 20 minutes après l'ajout de l'échantillon.



10. Interprétation des résultats

Pour pouvoir lire le résultat, évaluer les lignes colorées qui apparaissent dans la fenêtre de résultat :

Résultat positif pour le rotavirus, l'adénovirus ou les deux

Positif pour rotavirus:

Une ligne de couleur apparaît dans la zone de contrôle (C). Une autre ligne de couleur apparaît dans la zone de test pour rotavirus (R).



Positif pour adénovirus:

Une ligne de couleur apparaît dans la zone de contrôle (C). Une autre ligne de couleur apparaît dans la zone de test pour adénovirus (A).



Positif pour rotavirus et adénovirus :

Une ligne de couleur apparaît dans la zone de contrôle (C). Deux autres lignes de couleur apparaissent dans les zones de test pour rotavirus (R) et adénovirus (A).



Remarque:

L'intensité de la couleur des lignes de test (R/A) dépend de la concentration en antigène de l'échantillon. Pour cette raison, même des lignes de test peu colorées doivent être interprétées comme résultat positif. Ne pas essayer de quantifier la concentration en antigène à partir de l'intensité de la couleur. Il s'agit d'un test qualitatif.

Résultat négatif:

Une ligne de couleur apparaît dans la zone de contrôle (C). Aucune ligne n'apparaît dans la zone R ni dans la zone A.



Résultat non-valide:

La ligne de contrôle n'apparaît pas. Les résultats de tests dont la ligne de contrôle n'apparaît pas dans la période donnée ne peuvent pas être interprétés.



Les causes les plus courantes de l'absence de la ligne de contrôle sont un volume d'échantillon insuffisant, une migration trop faible de l'échantillon ou une erreur dans l'exécution du test. Vérifier l'exécution en recherchant les éventuelles erreurs et recommencer le test. Si le déroulement du test est perturbé par des particules visibles dans l'échantillon, il faut les séparer par centrifugation ou par sédimentation. Transférer une partie de l'échantillon dans un nouveau tube, faire sédimenter les particules par une courte centrifugation et pipeter 80-120 µl de la couche supérieure dans une nouvelle cassette. Autrement, il est aussi possible de maintenir le tube debout pour un certain temps, jusqu'à ce que les particules se déposent. Ensuite, 80-120 µl de la surface du fluide sont recueillis pour le test. Si le problème persiste, ne plus utiliser le kit et contacter le fournisseur.

Remarque:

Lors du test sur des selles diluées, le fond de la membrane peut sembler jaunâtre en raison de la propre couleur des selles. C'est acceptable tant que la coloration ne gêne pas la lecture du résultat. Le test est non-valide lorsque le fond n'est plus clair et que les lignes du test sont recouvertes.

11. Contrôle qualité

Le test comporte un contrôle de procédé interne. Une ligne de couleur apparaissant dans la zone de contrôle (C) indique que le test a été réalisé correctement. Son apparition confirme que le volume d'échantillon était suffisant, que la membrane a été entièrement imbibée et que le test a été exécuté correctement.

12. Limites du test

- Le test NADAL® Rota-Adenovirus est conçu pour une utilisation diagnostique *in-vitro* par des professionnels et doit être uniquement utilisé pour une détection qualitative de rotavirus et d'adénovirus.
- Comme pour tout test rapide, le résultat de test ne doit pas être le seul fondement d'un diagnostic, il doit être évalué par un médecin avec l'appui de toutes les connaissances cliniques et données d'analyses et éventuellement confirmé par d'autres analyses.
- Si les symptômes cliniques disparaissent en présence d'un résultat négatif, il faut employer d'autres méthodes cliniques pour vérifier ce dernier. Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection à rotavirus ou à adénovirus.
- Pour éviter une pseudo-épidémie, faire confirmer les résultats positifs obtenus sur les nouveau-nés par une méthode alternative (PCR).
- Si du sang est visible dans les échantillons de selles, un résultat faussement positif doit être envisagé. Dans ce cas, les résultats doivent être confirmés à l'aide d'une méthode alternative.

13. Performance du test

La performance du test NADAL® Rota-Adenovirus (Adénovirus) a été calculée en comparant les résultats de 210 échantillons cliniques d'enfants et d'adolescents avec les résultats de la méthode ELISA. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau: Le test NADAL® Rota-Adenovirus (Adénovirus) contre ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Adénovirus)		
		+	-	total
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	total	82	128	210

Sensibilité relative : >98,8%

Spécificité relative : >99,9%

Conformité générale : >99,5%

La performance du test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) a été calculée en comparant les résultats de 242 échantillons cliniques d'enfants et d'adolescents avec les résultats de la méthode ELISA. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant

Tableau: Le test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) contre ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus)		
		+	-	total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	total	79	163	242

Sensibilité relative : >96,3%

Spécificité relative : >99,9%

Conformité générale : >98,8%

Réactions croisées

La réaction croisée a été étudiée en analysant les organismes suivants à une concentration de 1.0×10^9 organismes/ml. Ces échantillons ont été analysés avec le test NADAL® Rota-Adenovirus et ont tous fournis des résultats négatifs.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Group C Streptococcus</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>E.coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Group B Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Bibliographie

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003; vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.

6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411-1413

Rev. 2, 2019-05-23 AS

1. Uso previsto

El test rápido NADAL® Rota-Adenovirus para muestras fecales es un inmunoensayo para la detección cualitativa de rotavirus y/o adenovirus en muestras fecales humanas. Este test sirve como ayuda en el diagnóstico de infección por rotavirus y adenovirus y está diseñado sólo para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.

2. Introducción y significado clínico

El Rotavirus es el agente comúnmente de gastroenteritis aguda, principalmente en niños. Su descubrimiento en 1973 y su asociación con gastroenteritis infantil representó un importante avance en el estudio de gastroenteritis por infección bacterial aguda. El Rotavirus se transmite vía oral-fecal con un período de incubación de 1-3 días. Aunque lo ideal para la detección del antígeno es el análisis de muestras tomadas entre el segundo y quinto día de la enfermedad, el rotavirus puede todavía ser encontrado mientras los episodios de diarrea continúan. La gastroenteritis rota viral puede resultar mortal para poblaciones de riesgo como niños, ancianos y pacientes inmunocomprometidos. La infección por rotavirus suele desarrollarse durante los meses de invierno. Se estima que la epidemia y epidemia afectan a miles de personas. El 50% de las muestras analizadas procedentes de niños hospitalizados por enfermedad aguda resultaron positivos en rotavirus. El virus se duplica en el núcleo de la célula y tienden a alojar especies específicas produciendo un efecto citopático característico (EPC). Debido a la extrema dificultad para el cultivo de rotavirus, no es usual el aislamiento del virus para el diagnóstico de la infección. En su lugar, se han desarrollado una gran variedad de técnicas para detectar rotavirus en muestras fecales.

El Adenovirus es otro agente común causante de gastroenteritis. La enfermedad aguda por diarrea en niños es causa de morbilidad en todo el mundo y una de las principales causas de mortalidad en países desarrollados. Varios estudios han revelado que algunos adenovirus específicos, primordialmente Ad40 y Ad41, son la principal causa de diarrea en muchos niños, después de rotavirus. Estos patógenos virales han sido aislados a través del mundo, y pueden causar diarrea en niños de todo el mundo. Este tipo de infecciones se suelen dar frecuentemente en niños menores de 2 años de edad, pero también se han encontrado en pacientes de todas las edades. Algunos estudios indican que los adenovirus se encuentran asociados con un 4-15% de todos los casos hospitalizados de gastroenteritis viral.

Un diagnóstico rápido y adecuado de gastroenteritis producida por adenovirus es imprescindible para establecer la etiología de gastroenteritis y el tratamiento del paciente. Otras técnicas de diagnóstico como el microscopio electrónico (ME) y el análisis de ácidos nucleicos por hibridación son costosos además de requerir un largo procedimiento. Debido a la naturaleza auto-limitada de la infección por adenovirus, tales procedimientos pueden no ser necesarios.

El test rápido NADAL® Rota-Adenovirus es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa y simultánea de rotavirus y/o adenovirus en muestras fecales humanas, obteniendo resultados en 10 minutos. El test utiliza anticuerpo

específico para rotavirus y adenovirus para detectar selectivamente los virus en muestras fecales humanas.

3. Principio del test

El test NADAL® Rota-Adenovirus es un inmunoensayo de flujo lateral y cualitativo para la detección de Rotavirus y/o Adenovirus en muestras fecales humanas.

En este test el rotavirus se detecta con la ayuda de anticuerpos específicos contra rotavirus mientras que el adenovirus es detectado con la ayuda de anticuerpos específicos contra adenovirus. Después de añadir la muestra (heces diluidas en el búfer) los anticuerpos específicamente etiquetados de color se ligan al respectivo virus si éste se encuentra presente en la muestra. Cuando este complejo migra a través de la membrana por acción capilar, es capturado con ayuda de otro anticuerpo específico contra rotavirus o adenovirus en la línea de resultado del test para el respectivo virus. Si el rotavirus está presente en la muestra, una línea de test roja aparecerá próxima a la R. Si el adenovirus está presente en la muestra una línea de test roja aparecerá próxima a la A. Si ambos virus están presentes (infección mixta) aparecerán dos líneas de test. Si no hay ningún virus presente en la muestra entonces los anticuerpos etiquetados de color no podrán ligarse a la línea de test de resultado, y por tanto no se formará línea de test de color roja. Por ello, la presencia de una línea de test coloreada indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo.

Como control de procedimiento, aparecerá siempre una línea de color siempre en la zona de control indicando que se ha añadido un volumen adecuado de muestra y que el test funciona correctamente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 20 test NADAL® Rota-Adenovirus formato casete empaquetados individualmente.
- 20 tubos para la recolección de la muestra y solución de búfer, para la recolección de la misma y su disolución.
- 20 pipetas desechables para la recolección de muestras extremadamente líquidas.
- Manual de instrucciones

5. Otros materiales necesarios

Paciente:

Instrumento para recoger la muestra fecal de manera que no entre en contacto con el agua del inodoro. Bajo petición, pueden ser suministrados por nal von minden GmbH.

Consulta del doctor o laboratorio:

- Papel higiénico para romper la punta del tubo con el búfer.
- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

Almacenar el test tal y como viene empaquetado a temperatura ambiente o refrigerado (2-30°C). Bajo estas condiciones, el test y el búfer se mantendrán estables hasta la fecha de caducidad. El test debe permanecer en la bolsa de aluminio cerrada herméticamente la cual contiene una bolsa antihumedad.

No congelar.

No usar después de la fecha de caducidad.

7. Advertencias y precauciones

- Solo para diagnóstico profesional *in-vitro*.
- Lea detenidamente las instrucciones de uso antes de realizar el test.
- No utilice el test una vez expirada la fecha de caducidad.
- No utilice el test si su envoltorio está dañado. No reutilice el test.
- Utilice un nuevo recipiente de recogida para cada muestra.
- No coma, beba o fume en ninguna de las zonas donde se realizará el test. Manipule todas las muestras como si se trataran de agentes infecciosos. Tenga en cuenta las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de los especímenes. Use ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analizan muestras.
- Sólo abra la envoltura del test cuando vaya a realizarlo.
- La solución de extracción contiene una pequeña cantidad de ácido de sodio que puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Así pues, cuando se deshaga de la solución de extracción o muestras extraídas, enjuague siempre con abundante cantidad de agua para evitar la acumulación de azida.
- No intercambie nimezcle los reactivos de diversos lotes.
- La humedad y la temperatura pueden afectar los resultados del test.
- Los materiales usados deben desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- Este kit contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado de origen y/o el estado sanitario de los animales no garantiza por completo la ausencia de agentes patógenos transmisibles. Por ello, se recomienda que trate estos productos como potencialmente infecciosos y los manipule según las precauciones de seguridad habituales (por ejemplo, no ingerir o inhalar).
- Los pacientes deben seguir las instrucciones de uso para obtener una muestra exacta. No tome la muestra en ninguno de estos casos: durante la menstruación (o 3 días antes o después), en caso de hemorroides sangrantes o sangrado causado por el estreñimiento. Tampoco tome la muestra si el paciente se está administrando medicamentos rectales.
- El alcohol, la aspirina u otros medicamentos tomados en exceso pueden causar irritación gastrointestinal resultando en sangrado oculto. Estas sustancias deben suspenderse al menos 48 horas antes de la realización del test.
- No es necesario que el paciente lleve a cabo una dieta específica antes de la realización del test.

8. Toma de muestras y preparación

Condiciones para una óptima recolección de la muestra.

El test NADAL® Rota-Adenovirus está diseñado para utilizarlo con muestras fecales humanas que hayan sido diluidas en el búfer suministrado.

La detección del virus resulta más fácil si las muestras se recogen en el momento en el que aparecen los síntomas. Se ha demostrado que la mayor excreción de rotavirus en las heces de los pacientes con gastroenteritis se da 2-5 días

después de la aparición de los síntomas. La excreción de adenovirus es aproximadamente 3-13 días después de la aparición de los síntomas. Si las muestras se recogen mucho más tarde de la aparición de los síntomas diarreicos, la cantidad de antígeno puede no ser suficiente para obtener una reacción positiva o los antígenos detectados pueden no estar ligados a los episodios diarreicos.

Las muestras fecales deben almacenarse a 2-8°C inmediatamente tras su recolección y procesarse en las siguientes 48 horas. Para un almacenamiento más prolongado conservar a -20°C. Debe evitarse congelar y descongelar las muestras.

Recolección y preparación de la muestra por el paciente.

Para la recolección de la muestra fecal se le entregará al paciente un tubo de recolección de muestras y una pipeta desechable. Por favor informar al cliente de que debe recoger la muestra de la siguiente manera:

1. Para la recolección de la muestra, utilizar un recipiente o papel resistente al agua limpio y seco. Por favor asegúrese de que la deposición fecal para la muestra no tome contacto directo con el agua de la taza del váter para evitar su disolución o la contaminación con detergentes. Es suficiente una cantidad de 1-2 ml o 1-2 g de deposición fecal.
2. Transfiera una pequeña cantidad de deposición fecal al tubo de recolección.



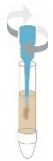
Para muestras sólidas:

Desenroscar la tapa del tubo de recolección de la muestra, y punce la muestra al menos en 3 partes diferentes de forma aleatoria con el aplicador de recolección para recoger aproximadamente 50 mg de deposición fecal (equivalente a 1/4 de una pieza)



Para muestras líquidas:

Si la deposición fecal es demasiado líquida para punzar con el aplicador utilice la pipeta desechable suministrada. Mantenga la pipeta vertical y aspire un poco de deposición fecal. Añadir 2 gotas (aproximadamente 50 µL) en el tubo de recolección de la muestra que contiene la disolución del búfer.



3. Vuelva a colocar el aplicador en el tubo y enrosque el capuchón.
4. Agite el tubo de recolección para que la muestra y la disolución del búfer quede bien mezclada. Tenga cuidado para que la punta del tubo de recolección no se rompa.
5. Envuelva la muestra en una bolsa de plástico y consérvela en un lugar frío. Lleve la muestra a la consulta de su médico dentro de las próximas 24 horas.



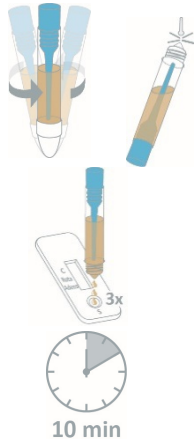
Nota:

Si el paciente no desea diluir la muestra de deposición fecal en el tubo de recolección, éste debe llevar el recipiente con la muestra de deposición fecal no procesada a la consulta del médico. El proceso de transferir la muestra en el búfer del tubo puede ser llevada a cabo como se ha descrito

anteriormente por el personal de la consulta del médico o por el laboratorio.

9. Procedimiento del test

1. Permitir que el dispositivo del test y a la muestra diluida alcancen la temperatura ambiente antes de realizar el test (15-30°C).
2. Sacar el dispositivo del test de su envoltorio cuando esté preparado para realizar el test. El dispositivo debe estar a temperatura ambiente para evitar la condensación de humedad en la membrana. Etiquetar el dispositivo en el espacio indicado con la identificación del paciente.
3. Agitar el tubo de la muestra para asegurar que la muestra fecal se mezcla con la solución.
4. Usando un trozo de papel, romper la punta del tubo recolector girándolo.
5. Mantener el tubo en posición vertical y poner de 2 a 3 gotas de la solución en el pocillo del dispositivo del test aplicando presión en la barrera del tubo. Evitar que se formen burbujas de aire en el pocillo o que salpique líquido en la ventana de resultados del test.
6. Activar el cronómetro. Cuando el test empiece su proceso usted podrá ver un líquido rojizo moviéndose a través de la membrana.



Esperar a que aparezcan las líneas de colores. El resultado debería poder ser leído después de unos 10 minutos. No interpretar los resultados transcurridos 20 minutos.

10. Interpretación de resultados

Para leer el resultado del test, deben interpretarse las líneas coloreadas que aparecen en la ventana de resultado.

Resultado positivo para rotavirus, adenovirus o ambos

Rotavirus positivo:

Una línea de color aparece en la línea de control (C) y otra línea de color aparece en la línea de test para Rotavirus (R).



Adenovirus positivo:

Una línea de color aparece en la línea de control (C) y otra en la línea de test para Adenovirus (A).



Rotavirus y Adenovirus positivo:

Una línea de color aparece en la línea de control (C) y otras dos en las líneas de resultado para Rotavirus (R) y para Adenovirus (A) respectivamente.



Nota:

La intensidad de color en la línea de la zona de test (Rota/Adeno) puede variar dependiendo de la concentración de las sustancias mencionadas presentes en la muestra. Por lo

tanto, una sombra de color en la línea de la zona de test debe ser considerado como un resultado positivo. Por otro lado, el nivel de las sustancias puede no ser determinado por este test cualitativo.

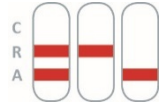
Resultado negativo:

Una línea de color aparece en la zona de control (C), y ninguna línea en la zona test de Rotavirus o Adenovirus.



Resultado no válido:

La línea de control (C) no aparece. Los resultados de cualquier test en el que no aparezca la línea de control en el momento de interpretar los resultados deben ser descartados. Por favor, revisar el procedimiento y realizar un nuevo test. Si el problema persiste, deje de utilizar los tests incluidos en el mismo kit y contacte con su distribuidor local.



Las principales causas por las que la línea de control no suele aparecer son un volumen insuficiente de muestra, una migración inadecuada por dicha insuficiencia, o que se han empleado técnicas de procedimiento incorrectas. Revisar el procedimiento y repetir el test con un nuevo dispositivo. Si la presencia de partículas visibles inhibe la migración, éstas pueden ser aclaradas por centrifugación o sedimentación. Transferir una parte de la muestra al tubo, sedimentar las partículas mediante una breve centrifugación y añadir con la pipeta aproximadamente 80-120 µl del sobrenadante en la parte correspondiente del test del nuevo dispositivo. De forma alternativa, permitir que las partículas se depositen en el tubo vertical y usar 80-120 µl de la parte superior del líquido. Si el problema persiste, deje de utilizar los tests del kit inmediatamente y contacte con su distribuidor local.

Nota:

Cuando las muestras fecales se analizan, el fondo puede aparecer ligeramente amarillo debido al color de la muestra fecal. Esto no es ningún problema siempre y cuando no interfiera en la interpretación del resultado del test.

11. Control de calidad

Se incluye un procedimiento de control interno en el test. Si aparece una línea de color en la zona de control (C), ello implicará un procedimiento de control interno positivo. Ello confirmará que se ha empleado suficiente volumen de muestra, que la reacción de la membrana ha funcionado correctamente así como que las técnicas de procedimiento han sido adecuadas.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Rota-Adenovirus en muestra fecal es para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*, y debe ser utilizado solo para la detección cualitativa de Adenovirus y Rotavirus.
- Como todos los tests de diagnóstico, un diagnóstico clínico definitivo no debe basarse en un solo test, sino que debe ser confirmado por un experto tras haber evaluado otros métodos de laboratorio.
- Si el resultado del test es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda el uso de otros métodos de análisis clínicos adicionales. Un resultado negativo no



excluye la posibilidad de una infección por rotavirus o adenovirus con una baja concentración de partículas de virus.

- Para prevenir los pseudobrotes, los resultados positivos en recién nacidos deben confirmarse utilizando un método de test alternativo (PCR).
- Si las muestras fecales presentan sangre visible, no se pueden descartar resultados falsos positivos, y por lo tanto deben verificarse utilizando métodos de test alternativos.

13. Características de rendimiento

Se ha evaluado el rendimiento del test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) con 210 muestras clínicas recolectadas de niños y adultos jóvenes en comparación con el método ELISA. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla: test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) frente a ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	total	82	128	210

Sensibilidad relativa: >98,8%
Especificidad relativa: >99,9%
Concordancia general: >99,5%

Se ha evaluado el rendimiento del test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) con 242 muestras clínicas recolectadas de niños y adultos jóvenes en comparación con el método ELISA. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla: test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) frente a ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus)		
		+	-	total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	total	79	163	242

Sensibilidad relativa: >96,3%
Especificidad relativa: >99,9%
Fiabilidad media: >98,8%

Reactividad cruzada

Se ha estudiado la reactividad cruzada con los siguientes organismos a 1,0 x 10⁹ organismos/ml. A continuación se muestran los organismos que resultaron negativos con el test NADAL® Rota-Adenovirus.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Streptococcus grupo C</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitides</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>

<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesius</i>
<i>Streptococcus grupo B</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Bibliografía

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelm I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411-1413

Rev. 2, 2019-05-23 IA

1. Uso Previsto

Il test NADAL® Rota-Adenovirus (feci) è un test rapido immunologico visivo per la determinazione qualitativa del rotavirus e dell'adenovirus in campioni di feci. Il test è un aiuto alla diagnosi di infezioni da rotavirus e adenovirus. Riservato alla diagnostica *in-vitro* e ad un uso esclusivamente professionale.

2. Introduzione e Significato Clinico

Il Rotavirus è il più comune agente responsabile di gastroenterite acuta, soprattutto nei bambini. La sua scoperta nel 1973 e la sua associazione alla gastroenterite infantile rappresentò un importante progresso degli studi sulla gastroenterite non causata da acute infezioni batteriche. Il Rotavirus è trasmesso per via orale o fecale con un periodo di incubazione di 1-3 giorni. Nonostante la raccolta del campione nel secondo e quinto giorno della malattia sia ideale per la rilevazione dell'antigene, il rotavirus potrebbe essere individuato anche mentre gli episodi di diarrea continuano. La gastroenterite da rotavirus potrebbe essere mortale per le popolazioni a rischio come i bambini, gli anziani e i pazienti immunocompromessi. Nelle zone con clima mite, le infezioni da Rotavirus si sviluppano principalmente nei mesi invernali. Il numero delle persone che viene affetto dall'endemia e dall'epidemia si aggira, come stimato, intorno al migliaio. Il 50% dei campioni analizzati prelevati da bambini ricoverati per gastroenterite acuta, sono risultati positivi al rotavirus. I virus si moltiplicano nei nuclei cellulari e tendono ad essere ospitati da diverse specie specifiche producendo caratteristici effetti citopatici (CPE). Siccome il rotavirus è estremamente difficile da coltivare, non viene utilizzato l'isolamento del virus per diagnosticare l'infezione. Una varietà di tecniche invece è stata sviluppata per la rilevazione del virus nelle feci.

Gli Adenovirus sono un altro agente responsabile della gastroenterite. Episodi di diarrea acuta nei bambini sono una delle maggiori cause di morbidità e di mortalità nei paesi in via di sviluppo. Studi dimostrano che gli adenovirus, principalmente Ad 40 e Ad 41, sono la causa principale di diarrea in molti di questi bambini, la seconda dopo il rotavirus. I patogeni virali sono stati isolati in tutto il mondo e possono causare diarrea nei bambini durante tutto l'anno. Le infezioni sono più frequenti nei bambini di età inferiore a 2 anni, ma sono state riscontrate anche in pazienti di tutte le età. Ulteriori studi dimostrano che gli adenovirus sono associati per il 4-15% a tutti i casi di ricovero per gastroenterite virale. Una diagnosi rapida ed accurata della gastroenterite dovuta ad adenovirus è utile ad individuare la causa della gastroenterite e a stabilire la cura del paziente. Altre tecniche di diagnostica come il microscopio elettronico (EM) e l'ibridazione molecolare sono costose e richiedono un lavoro intensivo di laboratorio. Per la natura autolimitante delle infezioni da adenovirus, queste costose tecniche di laboratorio non sono necessarie.

Il test NADAL® Rota-Adenovirus è un test rapido immunocromatografico per la rilevazione simultanea e qualitativa del rotavirus e/o adenovirus in campioni di feci umane e fornisce risultati in 10 minuti. Il test utilizza anticorpi specifici per il rotavirus e l'adenovirus in modo da rilevare in modo distinto i due virus in campioni di feci umane.

3. Principio del Test

Il test NADAL® Rota-Adenovirus è un test immunologico a flusso laterale per la rilevazione qualitativa del rotavirus e dell'adenovirus in campioni di feci umane.

Il test rileva gli adenovirus e i rotavirus grazie all'aiuto di anticorpi specifici. Dopo l'aggiunta del campione (feci diluite nel tampone di diluizione fornito) gli anticorpi specifici colorati si legano rispettivamente al proprio virus, se presente nel campione. Il complesso anticorpi-virus migra per effetto capillare lungo la membrana. Il complesso viene, allora, intercettato da altri anticorpi anti-adenovirus e anti-rotavirus sulle rispettive linee del test. Se il rotavirus è presente in quantità sufficiente nel campione, si forma una linea rossa a livello della scritta (R). Se è presente l'adenovirus nel campione, si forma una linea rossa a livello della scritta (A). Se entrambe i virus sono presenti nel campione (infezione mista), tutte e due le linee si colorano di rosso. Quando non è presente nessuno dei due virus, gli anticorpi marcati non possono legarsi a livello delle linee del test. Non appare nessuna linea rossa. La presenza di una linea rossa indica, dunque, un risultato positivo, mentre l'assenza della linea indica un risultato negativo.

La comparsa di una linea colorata nella zona di controllo (C) è da considerarsi come controllo interno positivo della procedura. Questo controllo positivo indica che è stata utilizzata una quantità sufficiente di campione e che la procedura del test è stata seguita correttamente.

4. Reagenti e Materiali Forniti

- 20 test a cassetta NADAL® Rota-Adenovirus confezionati singolarmente
- 20 tubi di prelievo e tampone di diluizione per la raccolta e diluizione del campione.
- 20 contagocce per la raccolta di campioni estremamente liquidi.
- 1 Istruzioni per l'uso.

5. Altri materiali necessari

Paziente :

Raccogliere il campione facendo attenzione che non entri in contatto con l'acqua di scarico. La nal von minden GmbH può fornire su richiesta dispositivi di raccolta del campione specifici.

Ambulatorio o laboratorio :

- Carta assorbente per rompere la punta del tampone di raccolta.
- Timer

6. Conservazione e stabilità

Il kit deve essere conservato nella sua confezione a temperatura ambiente o refrigerato (2-30°C). In questo modo, il test a cassetta ed il tampone di diluizione restano stabili fino alla data di scadenza. Il test deve essere conservato nella sua confezione, contenente un disidratante, fino al suo utilizzo.

Non congelare.

Non utilizzare oltre la data di scadenza indicata sulla confezione.

7. Avvertenze e precauzioni

- Solo per uso diagnostico *in-vitro*.

- Test monouso. Non riutilizzare il test.
- Non intercambiare o mescolare i reagenti di lotti differenti.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare il test se la confezione è danneggiata.
- Utilizzare tutti i test come potenzialmente infettivi. Non mangiare, bere o fumare in prossimità dei luoghi in cui i campioni e i test vengono manipolati. Indossare guanti, camice ed occhiali di protezione durante l'esecuzione del test. Prendere le misure di precauzione necessarie contro i rischi microbiologici e seguire le procedure di eliminazione dei campioni.
- Il tampone di diluizione contiene basse quantità di acido sodico.
- Proteggere il test dal calore e dall'umidità.
- I componenti del test (es. anticorpi/agenti chimici) non causano alcun pericolo se il test viene utilizzato seguendo le istruzioni.
- Seguire attentamente le istruzioni per l'uso. Informare i pazienti riguardo le corrette procedure di raccolta del campione.

8. Raccolta e preparazione del campione

Condizioni per la raccolta ottimale del campione

Il test NADAL® Rota-Adenovirus deve essere utilizzato solo con campioni di feci umane che siano stati diluiti con la soluzione di diluizione fornita.

L'individuazione del virus è migliore se i campioni vengono raccolti al momento della comparsa dei sintomi. È stato dimostrato che la massima presenza del rotavirus nelle feci dei pazienti con gastroenterite si verifica in 3-5 giorni dopo l'apparizione dei sintomi. Per l'adenovirus la massima espulsione avviene circa 3-13 giorni dopo la comparsa dei sintomi. Se il campione di feci è raccolto molto dopo la comparsa dei sintomi, i livelli dell'antigene potrebbero non essere alti abbastanza per un risultato positivo o gli antigeni rilevati potrebbero non essere associati all'episodio di diarrea.

I campioni di feci devono essere immediatamente refrigerati a 2-8°C ed esaminati entro 48 ore. È possibile una conservazione più lunga a -20°C. Il congelamento e lo scongelamento ripetuti dei campioni sono da evitare.

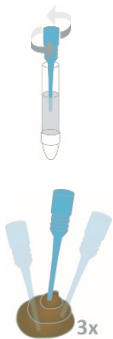
Raccolta e preparazione del campione ad opera del paziente

Per la raccolta del campione di feci, consegnare al cliente uno dei tubi per la raccolta del campione e un contagocce (inclusi nella confezione). Consigliare al paziente di raccogliere il campione di feci nel seguente modo:

1. Qualsiasi recipiente asciutto o qualsiasi cartone idrofugo possono essere utilizzati per la raccolta del campione. Assicurarsi che il campione di feci non entri in contatto con l'acqua di scarico, al fine di evitare una diluizione o una contaminazione con i prodotti domestici contenuti nell'acqua. 1-2 ml o 1-2 g di campione di feci sono sufficienti.
2. Prelevare una piccola quantità di feci con l'aiuto di un contagocce.

Campioni solidi:

Svitare il bastoncino del tubo di diluizione. Piantare il bastoncino in 3



angoli differenti delle feci al fine di raccogliere circa 50 mg di feci.

Campione liquido:

Se il campione è troppo liquido per il bastoncino di prelievo, utilizzare il contagocce per raccogliere il campione di feci liquide e depositare 2 gocce (circa 50 µL) nel tubo di diluizione contenente la soluzione di estrazione.

3. Rimettere il bastoncino nel tubo di diluizione e chiudere bene.
4. Agitare il tubo al fine di diluire il campione. Fare attenzione a non rompere l'estremità del tubo di raccolta.
5. Inserire il campione in un sacchetto di plastica e conservarlo in luogo fresco. Consegnare il campione in laboratorio entro le prossime 24 ore.

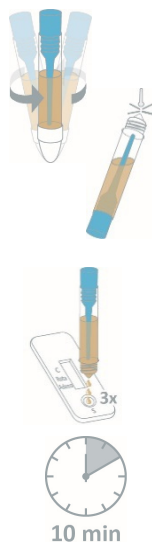


Nota :

Nel caso in cui il paziente non dovesse sentirsi sicuro nell'effettuare la diluizione del campione, può anche consegnare il campione di feci, non diluito, direttamente in laboratorio. La diluizione del campione nel tubo di raccolta sarà poi effettuata dai tecnici di laboratorio come illustrato sopra.

9. Procedura del Test

1. Portare il test a cassetta ed il campione di feci diluito a temperatura ambiente (15-30°C).
2. Togliere la cassetta dal suo imballaggio al momento dell'esecuzione del test. La cassetta deve essere a temperatura ambiente al fine di evitare una condensa a livello della membrana. Etichettare il test nello spazio apposito riportando l'identificativo del paziente.
3. Agitare energicamente il tubo al fine di rendere omogenea la soluzione.
4. Con un movimento rotatorio rompere la punta del tubo di raccolta utilizzando un foglio di carta assorbente.
5. Mantenere il tubo in verticale e depositare (esercitando una pressione sul tubo) 2-3 gocce di campione nel pozzetto di raccolta del campione (S). Evitare la formazione di bolle d'aria al momento dell'apertura del tubo così come il rovesciamento di liquidi sulla finestra di lettura della cassetta.
6. Far partire il timer. Appena il test inizia a funzionare vedrete un liquido rossastro muoversi lungo la membrana. Attendere la comparsa delle linee colorate. Il risultato può essere interpretato dopo 10 minuti. Risultati fortemente positivi potrebbero essere interpretati prima.



Non interpretare il risultato oltre i 20 minuti.

10. Interpretazione dei risultati

Interpretare le linee colorate apparse in corrispondenza della finestra di risultato del test.

Positivo ad infezione da Rotavirus e/o Adenovirus

Positivo per Rotavirus:

Appare una linea colorata a livello della linea di controllo (C). Appare una linea anche a livello dell'area di risultato del test per rotavirus (R).



Positivo per Adenovirus:

Appare una linea colorata a livello della zona di controllo (C). Appare una linea anche a livello dell'area di risultato del test per adenovirus (A).



Positivo per Rotavirus e Adenovirus:

Appare una linea colorata a livello della zona di controllo (C). Appaiono due altre linee rispettivamente a livello dell'area di risultato del test per rotavirus (R) e adenovirus (A).



Nota Bene :

L'intensità di colore delle linee del test (R/A) dipende dalla concentrazione dell'antigene nei campioni. Pertanto, qualsiasi tonalità di colore nella zona del test indica un risultato positivo. Non quantificare i risultati e le quantità di antigeni a seconda dell'intensità delle linee. Il test, essendo un test qualitativo, non può determinare la misura della concentrazione di agenti patogeni.

Negativo:

Appare una linea colorata a livello della zona di controllo (C). Non appare nessuna linea a livello della zona del test (R) e/o (A).



Non-valido:

Non appare la linea di controllo (C). I risultati del test non devono essere interpretati, anche se appaiono linee a livello delle zone del test (R) e (A). Si prega di rivedere la procedura e ripetere con un nuovo test. Se il problema persiste interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.



Una quantità insufficiente di campione, una migrazione insufficiente del campione o una sbagliata esecuzione della procedura possono essere all'origine dell'assenza della linea di controllo. Il test deve essere ripetuto. Se la presenza di particelle visibili ostacola la migrazione, queste vanno rimosse mediante sedimentazione o centrifuga. Trasferire una parte di campione in un flacone, sedimentare le particelle mediante una breve centrifuga e versare circa 80-120 µl del campione centrifugato, nel pozzetto di raccolta del campione. In alternativa fare depositare le particelle sul fondo del tubo di raccolta ed utilizzare 80-120 µl del fluido in superficie. Se il

problema persiste interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di kit e contattare il proprio distributore.

Nota Bene:

I campioni di feci diluiti possono ingiallire il fondo del test, a causa del colore del campione. Questo è accettabile se la colorazione non influisce sull'interpretazione del test. Il test deve essere considerato come non valido se la colorazione del fondo impedisce l'interpretazione del risultato.

11. Controllo di qualità

Il test contiene un procedimento di controllo interno. Una linea colorata nella zona di controllo (C) indica che il test è stato correttamente effettuato. La comparsa della linea di controllo conferma che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione, che il liquido è migrato lungo la membrana e che il test è stato eseguito correttamente.

12. Limiti del Test

- Il test NADAL® Rota-Adenovirus (feci) è riservato alla rilevazione qualitativa del Rotavirus e dell'Adenovirus nelle feci. Riservato all'uso professionale e unicamente per la diagnostica *in-vitro*.
- La diagnosi clinica definitiva non può basarsi sul risultato di un singolo test. Sarà il medico ad effettuare la diagnosi dopo una valutazione d'insieme dei test e di ulteriori esami clinici.
- Se un campione viene diagnosticato come negativo, nonostante i sintomi osservati, devono essere eseguiti altri test clinici al fine di confermare o meno il risultato del test. Un risultato negativo non esclude la possibilità di un'infezione con una flebile concentrazione di agenti virali.
- Al fine di prevenire pseudo-insorgenze, i risultati positivi dei test nei neonati devono essere confermati utilizzando un metodo di test alternativo (PCR).
- Se nei campioni fecali è presente del sangue visibile, non è possibile escludere risultati falsi positivi e pertanto è necessaria una verifica utilizzando un metodo di prova alternativo.

13. Caratteristiche Tecniche

La performance del test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) è stato valutato con 210 campioni clinici prelevati da bambini e giovani adulti confrontati con ELISA. I risultati sono riassunti come segue:

Tabella: Test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) vs. ELISA

		Test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus)		
		+	-	totale
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	totale	82	128	210

Sensibilità relativa: >98,8%

Specificità relativa: >99,9%

Concordezza totale: >99,5%

La performance del test NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus) è stato valutato con 242 campioni clinici prelevati

da bambini e giovani adulti confrontati con ELISA. I risultati sono riassunti come segue:

Tabella: Test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus)		
		+	-	totale
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	totale	79	163	242

Sensibilità relativa: >96,3%

Specificità relativa: >99,9%

Concordanza totale: >98,8%

Reazioni incrociate

Sono state studiate reazioni incrociate con gli organismi elencati sotto a 1,0 x 10⁹ organismi/ml. Questi campioni sono risultati negativi quando testati con il test NADAL® Rota-Adenovirus.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Group C Streptococcus</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitides</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Group B Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Bibliografia

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.

2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003; vol.9:247-262.

3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.

4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.

5. Thomas, Eva E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.

6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954

7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 BN

1. Zastosowanie

Test NADAL® Rota-Adenovirus to szybki test kasetowy dający wizualny i jakościowy wynik metodą immunochromatografii, stwierdzający obecność antygenów rotawirusów i/lub adenowirusów w ludzkim kale.

Test NADAL® Rota-Adenovirus stosuje się jako środek pomocniczy w diagnozowaniu infekcji wirusami z grupy rota i adeno. Test przeznaczony jest tylko do użytku profesjonalnego do celów badań diagnostycznych *in-vitro*.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Rotawirusy to najczęstsza przyczyna ostrego infekcyjnego zapalenia żołądka i jelita cienkiego u dzieci, zwanego potocznie grypą żołądkową. Odkrycie tego faktu w 1973 roku i skojarzenie korelacji tego wirusa ze stanem zapalnym żołądkowo-jelitowym u dzieci było przełomem w badaniu tego typu infekcji.

Do zakażenia dochodzi głównie drogą pokarmową, poprzez kontakt ze stolcem. Okres inkubacji wynosi 1-3 dni. Próbkę stolca pobrane między drugim a piątym dniem po wybuchu choroby mają największą koncentrację antygenów rotawirusów, dzięki czemu stanowią najlepszy materiał do przeprowadzenia testu. W późniejszym okresie możliwe jest wykrycie rotawirusa w próbkach, lecz jego stężenie będzie mniejsze. W grupach wysokiego ryzyka np. u niemowląt, osób starszych lub osób z osłabionym systemem immunologicznym zakażenie wirusem może prowadzić nawet do śmierci. W strefie klimatu umiarkowanego do zakażenia tym wirusem dochodzi najczęściej w miesiącach zimowych. Zanotowano zarówno endemie i epidemie dotykające tysiące osób. U około 50% hospitalizowanych dzieci, u których stwierdzono zapalenie żołądkowo-jelitowe, wykryto rotawirus. Wirusy rozmnażają się w jądrze komórkowym, wykazują się silną swoistością nosiciela/gospodarza i wywołują tak zwany efekt cytopatyczny (CPE). W związku z faktem, iż bardzo trudna jest filtracja i ekstrakcja wirusa z kultur komórkowych, praktycznie niemożliwe jest odizolowanie wirusa do celów diagnostycznych. Zamiast tego opracowano inne skuteczne metody pozwalające na stwierdzenie obecności rotawirusów w stolcu.

Adenowirusy są kolejną częstą przyczyną ostrego wirusowego zapalenia żołądkowo-jelitowego. W krajach rozwijających się ostra biegunka jest główną przyczyną zgonów u dzieci.

Badania wykazały, że adenowirusy są bardzo częstym powodem biegunek u dzieci (szczególnie Ad40 i Ad41), plasując się na drugim miejscu tuż po rotawirusach. Na infekcję szczególnie podatne są dzieci poniżej drugiego roku życia, ale narażone mogą być osoby w każdym wieku. Badania wykazały, że u około 4%-15% wszystkich pacjentów leczonych stacjonarnie z powodu wirusowego zapalenia żołądkowo-jelitowego, infekcję wywołały adenowirusy. Szybkie i dokładne zdiagnozowanie adenowirusów jako przyczyny wirusowego zapalenia żołądkowo-jelitowego jest pomocne w stwierdzeniu czynników etiologicznych schorzenia. Przeprowadzenie innych metod diagnostycznych jak mikroskopia elektronowa i hybrydyzacja kwasów nukleinowych związane jest z dużym nakładem czasu i pieniędzy. W związku z faktem, że infekcje adenowirusami samoistnie ustępują, takie badania nie są konieczne.

Test NADAL® Rota-Adenovirus pozwala na szybką immunochromatograficzną analizę jakościową równocześnie rotawirusów i adenowirusów. Wynik testu można odczytać po 10 minutach. Wybiórcze oznaczenie wirusów z próbki stolca możliwe jest przez zastosowanie swoistych przeciwciał wobec rotawirusów i adenowirusów.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Rota-Adenovirus to jakościowy test immunochromatograficzny typu lateral flow stwierdzający obecność rotawirusów i/lub adenowirusów w ludzkim stolcu. Test wykrywa rotawirusy za pomocą swoistych przeciwciał wobec rotawirusów, względnie adenowirusów, za pomocą swoistych przeciwciał wobec adenowirusów.

Po dodaniu próbki, tj. rozcieńczonego za pomocą bufora stolca, barwnie oznakowane przeciwciała wiążą się z danym wirusem, jeśli jest on obecny w próbce stolca. Poprzez działanie sił kapilarnych kompleks cząsteczki wirus-przeciwciała przemieszcza się wzdłuż membrany. Dalej, w odpowiednich polach linii testowych, dochodzi do przechwytności kompleksu przez odpowiednie przeciwciała wobec rotawirusa i/lub adenowirusa. Jeśli rotawirusy są obecne w próbce, utworzy się czerwona linia w obszarze oznakowanym na kasiecie testu literą R. W przypadku obecności adenowirusów w materiale badawczym utworzy się linia w polu oznakowanym na kasiecie testu literą A. Jeśli oba wirusy znajdują się w próbce, np. w przypadku infekcji mieszanej, utworzą się dwie linie. Jeśli nie ma w próbce stolca zarówno rotawirusów jak i adenowirusów, barwnie oznakowane przeciwciała nie mogą utworzyć wiązań i nie dojdzie do utworzenia czerwonych linii. Zatem utworzenie się czerwonej linii świadczy o pozytywnym wyniku, podczas gdy brak linii oznacza wynik negatywny.

O prawidłowym przeprowadzeniu testu świadczy czerwona linia utworzona w polu kontrolnym oznakowanym literą C. Linia w polu kontrolnym sugeruje, że ilość próbki była wystarczająca oraz, że próbka kałowa zmieszana z membraną.

4. Części składowe zestawu

- 20 NADAL® Rota-Adenovirus szczelnie zapakowanych, pakowanych pojedynczo testów kasetowych
- 20 probówek na pobranie próbki stolca zawierających bufor rozcieńczający
- 20 jednorazowych pipetek, które stosuje się w przypadku wyjątkowo rzadkiej próbki stolca
- 1 ulotka informacyjna (instrukcja użycia)

5. Dodatkowo potrzebne materiały

Dla pacjenta:

Materiały pomocne do pobrania próbki stolca. Próbka stolca nie może mieć kontaktu z wodą w muszli klozetowej, aby nie doszło do rozcieńczenia i/lub zanieczyszczenia próbki detergentami i środkami czystości. Na życzenie firma nal von minden GmbH może zaoferować specjalne urządzenia do pobierania stolca.

W gabinetach lekarskich i laboratoriach:

- Chłonny papier potrzebny przy łamaniu końcówki probówki
- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie

Zestaw testowy w oryginalnym opakowaniu należy przechowywać w pomieszczeniach o temperaturze pokojowej lub w miejscu schłodzonym (2-30°C). W takich warunkach testy kasety i bufor są zdadne do użytku do upływu wyznaczonego terminu ważności. Testy kasety należy pozostawić w szczelnie zamkniętym opakowaniu wraz ze środkiem pochłaniającym wilgoć aż do momentu przeprowadzenia testu.

NIE ZAMRAŻAĆ.

Nie używać po upływie terminu ważności.

7. Uwagi i środki ostrożności

- Tylko do użytku profesjonalnego i diagnostyki *in-vitro*.
- Tylko do jednorazowego użytku.
- Nie mieszać i nie wymieniać odczynników i materiałów z różnych zestawów testowych.
- Nie używać testu, jeżeli foliowe opakowanie jest uszkodzone.
- Nie stosować po upływie terminu ważności.
- Test zawiera składniki pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza na temat pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantują w pełni braku obecności możliwych do przenoszenia patogenów. Dlatego zaleca się, aby traktować te produkty jako potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi zgodnie ze zwyczajowymi zasadami bezpieczeństwa (np. niepołykanie lub niewydychanie).
- Należy unikać zanieczyszczenia krzyżowego próbek używając do każdej próbki nowej probówki.
- Nie jeść, nie pić i nie palić w obszarze pracy z próbkami i testem. Podczas całej procedury przeprowadzania testu należy przestrzegać ustalonych środków ostrożności przeciwko zagrożeniom mikrobiologicznym oraz stosować się do standardowych procedur podczas usuwania próbek. Podczas testowania próbek należy nosić ubranie ochronne, takie jak kittel laboratoryjny, rękawiczki jednorazowe lub okulary ochronne.
- Roztwór ekstrakcyjny zawiera niewielką ilość azydru sodu, który reaguje z ołowianymi i miedzianymi rurami instalacyjnymi i może kształtować wybuchowe azydki metali. Przy usuwaniu roztworu ekstrakcyjnego i pobranej próbki przez instalację odpływową należy zawsze spłukać go dużą ilością wody, aby uniknąć kształtowania się azydków.
- Wilgoć i temperatura mogą mieć negatywny wpływ na wynik testu.
- Przy odpowiednim obchodzeniu się z testem, materiały w nim zawarte jak przeciwciała czy chemikalia, nie stanowią zagrożenia.
- Należy dokładnie stosować się do poleceń w instrukcji obsługi. Pacjentom należy udzielić szczegółowej informacji, szczególnie dotyczącej pobrania próbki stolca i jej rozcieńczenia.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Optymalne warunki pobrania próbki

Test NADAL® Rota-Adenovirus to test kasetowy przeznaczony do badania próbki stolca ludzkiego. Przed wykonaniem testu należy rozcieńczyć próbkę buforem, który jest dołączony do

zestawu. Aby skutecznie wykryć obecność wirusa zaleca się pobrać próbkę stolca zaraz po wystąpieniu symptomów choroby. Największa ilość wydalananych rotawirusów ma miejsce między 3-5 dniem po wystąpieniu objawów choroby. W przypadku adenowirusów, największe występowanie ma miejsce między 3-13 dniem od momentu wystąpienia symptomów. Jeśli pobierze się próbkę na długo po wystąpieniu symptomów, zawarta w niej ilość antygenów może okazać się niewystarczająca by uzyskać wynik pozytywny testu. Istnieje też ryzyko, że wykryte zostaną antygeny niemające związku ze schorzeniem jelitowo- żołądkowym czy biegunką.

Próbki kału powinny zostać użyte do badania zaraz po pobraniu lub przechowywane w temp. 2-8°C przez 2 dni. Dłuższe przechowywanie jest możliwe w temp. -20°C. Należy unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania próbek.

Wskazówki dla pacjenta

W celu pobrania próbki stolca, pacjent otrzymuje probówkę do pobrania próbki i jednorazową pipetkę z zestawu testowego. Należy poinstruować pacjenta, aby pobrał próbkę stolca w następujący sposób:

- Każdy suchy i czysty pojemnik albo wodoodporny papier, mogą zostać użyte do pobrania próbki. Próbkę stolca nie może mieć kontaktu z wodą w muszli klozetowej, aby nie doszło do rozcieńczenia próbki i/lub zanieczyszczenia detergentami i środkami czystości. Wystarczy 1-2 ml lub 1-2 g stolca.
- Umieścić niewielką ilość próbki stolca w probówce:



Stolec o stałej konsystencji:

Otworzyć zatyczkę probówki na pobranie próbki. Nakłuć próbkę stolca w trzech różnych miejscach i w ten sposób pobrać około 50 mg stolca (wielkość próbki odpowiada ¼ ziarenka groszku).



Stolec o płynnej konsystencji:

Jeśli konsystencja stolca jest zbyt płynna, należy użyć załączonej jednorazowej pipety. Trzymając pipetę pionowo, należy naciągnąć niewielką ilość stolca do pipety, a następnie nanieść 2 krople (około 50 µl) do probówki, w której zawarty jest bufor rozcieńczający.



- Wprowadzić spiralną patyczka do probówki i dokładnie ją zakręcić.
- Wstrząsnąć probówką, aby w ten sposób dokładnie wymieszać próbkę stolca z roztworem buforowym. Należy ostrożnie obchodzić się z probówką, aby nie złamał się jej czubek.

- Wsadzić probówkę do plastikowej torebki i następnie przenieść ją do chłodnego miejsca (np. do lodówki). W ciągu następnych 24 godzin probówkę należy przynieść do gabinetu lekarskiego.

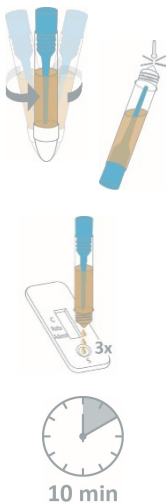


Wskazówka:

Jeśli pacjent jest niepewny procedury rozcieńczenia próbki, w tym celu może udać się do gabinetu zabiegowego wraz z niespreparowaną tj. nierozcieńczoną próbką.

9. Przeprowadzanie testu

1. Szczelnie zamknięty test i pobraną próbkę doprowadzić do temperatury pokojowej tj. od 15°C do 30°C przed przeprowadzeniem testu.
2. Test wyjąć z opakowania bezpośrednio przed przeprowadzeniem testu. Kasetka testu powinna mieć temperaturę pokojową, aby w ten sposób uniknąć kondensacji i skraplania się wilgoci na membranie testu. Należy opisać kasetkę testu np. numerem pacjenta lub numerem kontrolnym, by umożliwić późniejszą identyfikację.
3. Mocno wstrząsnąć probówką, by dokładnie wymieszać próbkę stolca z roztworem buforowym.
4. Odkręcić białą zakrętkę, a następnie trzymając probówkę przez chłonny papier, złamać plastikową końcówkę probówki.
5. Trzymając probówkę pionowo, nanieść 2-3 krople substancji do otworu (S) kasetki, delikatnie naciskając ścianki probówki. Należy uniknąć tworzenia się pęcherzyków powietrza w otworze kasetki (S) jak i zakroplenia kwadratowego okna wyniku.
6. Rozpocząć odliczanie czasu. Już w pierwszych sekundach testu można zobaczyć, jak membrana nasiąka czerwono-białą substancją. Odczekać do ukazania się jednej lub dwóch barwnych linii. Wynik należy odczytać po upływie 10 minut. Wyniki silnie pozytywne mogą być widoczne wcześniej. Wynikowy po upływie 20 minut od rozpoczęcia testu nie należy interpretować.

**Wynik pozytywny na obecność rotawirusów i adenowirusów:**

Pojawi się barwna linia w polu kontrolnym (C) jak i 2 barwne linie w polu testowym na rotawirusy (R) i adenowirusy (A).

**Wskazówka:**

Intensywność barwy w polach testowych (R/A) zależy od stężenia antygenów w materiale próbnym tj. w próbce stolca. Nawet lekko zabarwione linie w polu testowym należy zinterpretować jako wynik pozytywny. Nie należy szacować ilości antygenów sugerując się intensywnością barwy linii. Test jest przeznaczony do analizy jakościowej.

Wynik negatywny

Pojawia się barwna linia w polu kontrolnym (C). W polach oznakowanych literkami R i A nie pojawiają się linie.

**Wynik nieważny**

Nie pojawia się linia w polu kontrolnym (C). Jeśli po określonym wyżej czasie nie pojawiła się linia w polu kontrolnym (C), nie należy interpretować wyniku.



Najczęstszą przyczyną braku linii w polu kontrolnym (C) jest niewystarczająca ilość próbki, niewystarczające nasiąknięcie membrany roztworem lub nieprawidłowe przeprowadzenie testu. Należy sprawdzić, czy podczas procedury testu nie popełniono żadnych błędów a następnie powtórzyć test. Jeśli przemieszczanie się próbki wzdłuż membrany testu uniemożliwiają duże cząsteczki stolca, w celu ich usunięcia należy przed przeprowadzeniem testu poddać próbkę sedymentacji lub odwirowaniu.

Następnie przetransportować część próbki do nowej probówki, poddać ją sedymentacji lub wirowaniu, a następnie nanieść 80-120 µl substancji do otworu (S) nowej kasetki testu. Alternatywnie można pozostawić probówkę z próbką stolca i buforem w pozycji pionowej, aż do osadzenia się cząstek stolca. Następnie pobrać 80-120 µl substancji z osadu i użyć do przeprowadzenia testu.

Uwaga:

W przypadku testowania rozcieńczonych próbek stolca, możliwe jest żółtawe zabarwienie tła pola testowego spowodowane swoistą kolorystyką stolca.

Jeśli jednak nie utrudni to interpretacji wyniku testu, jest to wynik do zaakceptowania. Natomiast w przypadku, gdy tło testu jest nieprzejrzyste zasłaniając linie wyniku, test uznaje się za nieważny, a wynik za nieprawidłowy.

11. Kontrola jakości

Test posiada wewnętrzną kontrolę. Barwna linia w polu kontrolnym C wskazuje, że test został przeprowadzony prawidłowo. Pojawienie się tej linii potwierdza, że ilość próbki była wystarczająca, nastąpiło całkowite nasiąknięcie membrany testu i test został przeprowadzony prawidłowo.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Rota-Adenovirus przeznaczony jest tylko do diagnostyki *in-vitro* dla personelu fachowego i służy tylko

10. Interpretacja wyników

Aby odczytać wynik testu, należy zinterpretować barwne linie, które ukaza się w oknie wyników.

Możliwe wyniki.**Wynik pozytywny na obecność rotawirusów:**

Pojawia się barwna linia w polu kontrolnym (C) i barwna linia w polu testowym na rotawirusy oznakowanym literką R.

**Wynik pozytywny na obecność adenowirusów:**

Pojawia się barwna linia w polu kontrolnym (C) i barwna linia w polu testowym na adenowirusy oznakowanym literką A.



i wyłącznie do oznaczania jakościowego obecności rotawirusów i adenowirusów.

- Jak w przypadku wszystkich szybkich testów diagnostycznych, wynik testu nie powinien być jedyną podstawą rozpoznawania i diagnozy schorzenia, zaleca się potwierdzenie wyniku przez lekarza specjalistę w powiązaniu z symptomatyką, historią kliniczną i wynikami innych badań.
- Jeśli w przypadku negatywnego wyniku testu objawy utrzymują się, należy przeprowadzić inne kliniczne badania w celu wyjaśnienia przyczyny. Należy wziąć pod uwagę, że wynik negatywny testu nie wyklucza obecności adeno- lub rotawirusów w stolcu (jeśli jest to infekcja o niskim stężeniu wirusów).
- Pozytywny wynik testu u noworodków musi zostać potwierdzony alternatywną metodą badania (PCR), aby zapobiec wybuchom pseudo-epidemii.
- Przy widocznej krwi w próbkach kału nie można wykluczyć wyników fałszywie dodatnich i dlatego należy ją sprawdzić alternatywną metodą badania.

13. Charakterystyka testu

Wydajność testu NADAL® Rota-Adenovirus Tests (Adenovirus) została określona przy pomocy 210 klinicznych próbek od dzieci i młodych dorosłych w porównaniu do ELISA. Wyniki zostały przedstawione w następującej tabeli.

Tabela: Szybki test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus)		
		+	-	razem
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	razem	82	128	210

Relatywna czułość: >98,8%

Relatywna swoistość: >99,9%

Całkowita zgodność: >99,5%

Wydajność testu NADAL® Rota-Adenovirus Tests (Rotavirus) została określona przy pomocy 242 klinicznych próbek od dzieci i młodych dorosłych w porównaniu do ELISA. Wyniki zostały przedstawione w następującej tabeli.

Tabela: Szybki test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus)		
		+	-	razem
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	razem	79	163	242

Względna czułość >96,3%

Względna swoistość >99,9%

Całkowita zgodność >98,8%

Reakcje krzyżowe

Reakcje krzyżowe z poniżej wymienionymi organizmami zostały przebadane ze stężeniem na poziomie $1,0 \times 10^9$ organizmów/ml. próbki te zostały przebadane testem NADAL® Rota-Adenovirus i określone jako negatywne.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Group C Streptococcus</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitides</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Group B Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Bibliografia

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411-1413

Rev. 2, 2019-05-23 MW

1. Utilização prevista

O teste NADAL® Rota-Adenovirus é um imuno-ensaio visual rápido para a detecção qualitativa de rotavírus e adenovírus em amostras fecais humanas. Este teste destina-se à utilização como ajuda no diagnóstico de infeção por rotavírus e adenovírus. O teste está concebido para ser utilizado apenas para o diagnóstico profissional *in-vitro*.

2. Introdução e significados clínicos

O Rotavírus é o agente responsável por gastroenterite aguda mais comum, principalmente em crianças jovens. A sua descoberta em 1973 e associação com gastroenterite infantil representou um avanço muito importante no estudo de gastroenterite não causada por infeção bacterial aguda. O rotavírus é transmitido por via oro-fecal, com um período de incubação de 1 a 3 dias. Apesar de ser ideal a recolha da amostra entre o segundo e o quinto dia da doença para a detecção de antígeno, o rotavírus pode ainda ser encontrado enquanto a diarreia continuar. A gastroenterite rotaviral pode resultar em mortalidade para populações de risco, tais como crianças, idosos e pacientes imunocomprometidos. Em climas temperados, as infeções por rotavírus ocorrem principalmente nos meses de inverno. As endemias, assim como as epidemias que afetam alguns milhares de pessoas, devem ser relatadas. Em crianças hospitalizadas que sofram de doença entérica aguda, até 50% da amostra analisada apresentaram resultados positivos para rotavírus. As viroses repetem-se no núcleo das células e tendem a alojar espécies específicas, produzindo um efeito citopático (CPE) característico. Uma vez que o rotavírus é de cultura extremamente difícil, é pouco usual utilizar isolamento do vírus para diagnosticar uma infeção. Como alternativa, foram desenvolvidas uma série de técnicas para detetar o rotavírus em fezes.

A doença diarreica aguda em crianças jovens é uma causa principal de morbidez em todo o mundo e é uma causa líder de mortalidade nos países em desenvolvimento. Estudos realizados apresentam que as adenoviroses entéricas, principalmente Ad40 e Ad41, são uma causa líder de diarreia em muitas destas crianças, encontrando-se na segunda posição as rotaviroses. Estes patógenos virais foram isolados em todo o mundo, e podem causar diarreia em crianças durante o ano. As infeções são mais frequentemente detetadas em crianças com menos de 2 anos, mas também foram encontradas em pacientes de outras idades. Estudos adicionais indicam que as adenoviroses estão associadas com 4 a 15% dos casos hospitalizados de gastroenterite viral.

É útil o diagnóstico rápido e preciso de gastroenterite gerado por adenovírus, para estabelecer a etiologia da gastroenterite e a gestão relacionada do paciente. Outras técnicas de diagnóstico, tais como microscopia electrónica (ME) e hibridização ácida nucléica são caros e muito trabalhosos. Com a sua natureza auto-limitadora da infeção de adenovírus, tais testes caros e trabalhosos podem não ser necessários.

3. Princípio do teste

O teste NADAL® Rota-Adenovirus está concebido para a detecção do rotavírus e adenovírus através da interpretação visual da cor desenvolvida na tira reagente interna.

Neste ensaio, o rotavírus e o adenovírus são detetados com a ajuda de anticorpos específicos. Após a adição da amostra

(fezes diluídas com buffer), os anticorpos específicos classificados com cores ligam-se especificamente ao respectivo vírus, se este estiver presente na amostra. Quando este complexo migra de forma ascendente na membrana através de ação capilar, é capturado com a ajuda de outros anticorpos específicos contra rotavírus ou adenovírus na zona de resultados do teste, para o vírus respetivo. Se o rotavírus estiver presente na amostra, é gerada uma linha de resultados vermelha ao lado da zona marcada com "R". Se o adenovírus estiver presente na amostra, irá aparecer uma linha vermelha ao lado da zona marcada com "A". Se ambas as viroses estiverem presentes (infeção mista), aparecerão duas linhas de resultados. Se nenhum vírus estiver presente no anticorpo classificado com cor, não pode ligar na área de resultados de teste. Não se formam quaisquer linhas vermelhas de resultado de teste. Assim, a presença de uma linha de resultado colorida indica um resultado positivo, enquanto a sua ausência indica um resultado negativo.

Para servir como controlo processual, aparecerá sempre uma linha colorida na área de controlo, indicando que foi adicionado o volume adequado da amostra e que ocorreu a absorção da membrana.

4. Reagentes e materiais fornecidos

- 20 Testes cassete NADAL® Rota-Adenovirus individualmente embalados.
- 20 Tubos de recolha de amostra com buffer de diluição, para recolha e diluição da amostra.
- 20 Pipetas descartáveis para recolha de amostras extremamente líquidas.
- 1 Manual de utilização.

5. Outros materiais necessários (não fornecidos)

Paciente:

Meios para a recolha de uma amostr.

Assegurar que as amostras não entrem em contacto com a água da sanita, a fim de evitar a diluição ou contaminação, por exemplo, com detergentes. Mediante pedido, a nal von minden poderá fornecer unidades específicas para a recolha de fezes.

Clínica ou laboratório:

- Papel de seda para quebrar a ponta do tubo buffer.
- Cronómetro.

6. Armazenamento & Estabilidade

Armazenar o teste dentro da embalagem quer à temperatura ambiente ou refrigerado (entre 2-30°C).

Sob estas condições, o teste cassete e o buffer de diluição mantêm-se estáveis até à expiração do prazo de validade. O teste cassete deve manter-se dentro da embalagem selada contendo um dessecante até à sua utilização.

Não congelar.

Não utilizar após expirar o prazo de validade.

7. Avisos e Precauções

- Apenas para utilização profissional de diagnóstico *in-vitro*.
- Para utilização única. Não reutilizar os testes.
- Não trocar ou misturar reagentes de lotes diferentes.
- Não utilizar os testes se a embalagem estiver danificada.
- Não utilizar os testes após expirar o prazo de validade.

- Este teste contém produtos de origem animal. Certificados com o conhecimento da origem e/ou estado sanitário dos animais não garante completamente a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. Portanto, é recomendável que esses produtos sejam tratados como potencialmente infecciosos e manuseados em conformidade com as precauções habituais de segurança (p. ex.: não ingerir nem inalar).
- Evitar a contaminação cruzada das amostras, utilizando um novo recipiente para a recolha das amostras para cada amostra obtida.
- Não comer, beber ou fumar na área onde as amostras ou os kits são manuseados. É recomendada a utilização de vestuário de proteção, tal como batas de laboratório, luvas descartáveis e óculos de proteção. Deverá observar as precauções estabelecidas contra materiais de risco microbiológico durante a análise. Seguir os procedimentos padrão para a eliminação adequada de amostras, de acordo com as regulações locais.
- O buffer de diluição da amostra contém uma pequena quantidade de azida de sódio que pode reagir com chumbo ou cobre das canalizações, podendo formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Ao descartar-se da solução de extração ou das amostras extraídas, deverá lavar-se sempre com abundantes quantidades de água a fim de prevenir a acumulação de azida.
- A humidade e a temperatura podem afetar adversamente os resultados.
- Os componentes do teste (p. ex.: anticorpos/químicos) não causam qualquer perigo se o teste for utilizado de acordo com as instruções.
- Deverá seguir as instruções de utilização cuidadosamente. Deverá informar os pacientes sobre a forma de recolha e diluição da amostra fecal.

8. Recolha e preparação da amostra

Condições para uma recolha adequada da amostra

O teste NADAL® Rota-Adenovirus é destinado à utilização com amostras fecais humanas que foram diluídas no buffer fornecido.

A deteção viral torna-se mais fácil se a recolha de amostras for realizada no início do aparecimento dos sintomas. Foi relatado que a máxima secreção de rotavírus em fezes de pacientes com gastroenterite ocorre entre 2 a 5 dias após o início dos sintomas. Para o adenovírus a secreção máxima é entre 3 a 13 dias após o início dos sintomas. Se as amostras forem recolhidas muito tempo depois do início dos sintomas de diarreia, a quantidade de antígeno pode não ser suficiente para obter uma reação positiva ou os antígenos detetados podem não estar ligados ao episódio de diarreia.

As amostras de fezes devem ser armazenadas entre 2-8°C imediatamente após a recolha e processadas dentro de 48 horas. É possível armazenar por períodos mais longos a -20°C. Deve ser evitado o congelamento e descongelamento repetidos das amostras.

Recolha e preparação da amostra pelo paciente

Para recolher a amostra de fezes, é dado ao paciente um dos tubos de recolha da amostra do kit e uma pipeta descartável. A amostra fecal deverá ser recolhida da seguinte forma:

1. Qualquer recipiente limpo e seco ou papel impermeável pode ser utilizado para a recolha da amostra. Assegurar que a amostra fecal não entra em contacto direto com a água da sanita, para evitar a diluição ou contaminação com detergentes. É suficiente uma quantidade de 1 a 2 ml ou 1 a 2 g de fezes.
2. Transferir uma pequena quantidade de fezes para o tubo de recolha de amostra:



Para amostras sólidas:

Desenroscar a tampa do tubo de recolha de amostra, depois aleatoriamente espetar o aplicador de recolha de amostra na amostra fecal em, pelo menos, 3 locais diferentes, para recolher aproximadamente 50 mg de fezes (equivalente a 1/4 de ervilha).

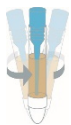


Para amostras líquidas:

Se a amostra for demasiado líquida para espetar o aplicador, deve utilizar a pipeta descartável fornecida. Segurar a pipeta na vertical, aspirar parte da amostra e depois transferir 2 gotas (aproximadamente 50 µL) para dentro do tubo de recolha de amostra contendo o buffer de diluição.



3. Colocar o aplicador de volta no tubo e enroscar hermeticamente a tampa.
4. Agitar o tubo de recolha, para misturar a amostra e o buffer de diluição. Seja cuidadoso para não partir a ponta do tubo de recolha.
5. Enrolar a amostra num saco de plástico e armazenar num local fresco. Devolver a amostra na clínica médica dentro de 24 horas após a recolha.



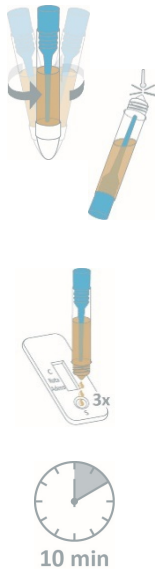
Nota:

Se o paciente não se sentir confortável a diluir a amostra fecal no tubo de recolha, poderá entregar na clínica um recipiente com a amostra fecal não transformada. A transferência da amostra para o buffer do tubo de recolha da amostra pode depois ser efetuada como é descrito acima pelo pessoal da clínica ou do laboratório.

9. Procedimento do teste

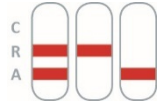
1. Antes de iniciar a análise permitir que o dispositivo de teste e a amostra fecal diluída alcancem a temperatura ambiente (15-30°C).
2. Retirar o teste cassete da embalagem quando estiver tudo pronto para realizar o teste. O teste cassete deve estar à temperatura ambiente para evitar a condensação da humidade na membrana. Rotular o teste cassete no espaço apropriado para esse efeito, com a identificação do paciente ou do controlo.

3. Agitar bem o tubo de recolha para assegurar a mistura adequada da amostra fecal com a solução de extração.
4. Utilizando um pedaço de papel de tecido, quebrar a ponta do tubo de recolha com movimento giratório.
5. Segurar o tubo verticalmente e dispensar entre 2 a 3 gotas de solução no orifício redondo para amostra (S) do teste cassete, aplicando uma ligeira pressão nas paredes do tubo. Evitar bolhas de ar no orifício de amostra ou salpicos de líquido na janela de resultados.
6. Iniciar a cronometragem. À medida que o teste começar a funcionar, irá aparecer um líquido de cor vermelha movendo através da membrana. Esperar que a(s) linha(s) de cor apareçam. O resultado deverá ser lido após 10 minutos. Os resultados significativamente positivos podem ser observados antes. Não interpretar o resultado após 20 minutos.

**Resultado inválido:**

A linha de controlo (C) não aparece. Os resultados de qualquer teste que não tenha apresentado uma linha de controlo durante o tempo de leitura específico devem ser rejeitados.

Por favor, rever o procedimento e repeti-lo com um novo teste. Se o problema persistir, deve parar de utilizar o kit imediatamente e contactar o seu distribuidor local.



As razões mais prováveis para a falha da linha de controlo são a utilização de volume insuficiente de amostra, a migração insuficiente da amostra ou a utilização de técnicas incorretas de procedimento. Rever o procedimento e repetir o teste com um novo teste cassete. Se a presença de partículas visíveis inibe a migração, estas podem ser removidas por centrifugação ou sedimentação. Transferir uma parte da amostra para um tubo, sedimentar as partículas através de uma breve centrifugação e pipetar aproximadamente 80-120 µl do supernatante dentro do orifício para amostra do novo teste cassete. Alternativamente, permitir que as partículas se sedimentem na vertical dentro do tubo de recolha da amostra e utilizar 80-120 µl da parte de cima do líquido. Se o problema persistir, parar de utilizar o kit de teste imediatamente e contactar o seu distribuidor local.

Nota:

Quando as amostras fecais são testadas, o fundo pode aparecer ligeiramente amarelado devido à cor das amostras fecais. Isto é aceitável desde que não interfira com a interpretação do resultado do teste. O teste é inválido se o fundo não clarear e obscurecer a leitura do resultado.

10. Interpretação de resultados

Para ler os resultados da análise deverá interpretar-se as linhas coloridas que surgem na janela de resultado do teste.

Resultado positivo para Rotavírus, Adenovírus ou ambos**Positivo para Rotavírus:**

Uma linha colorida aparece na área de controlo (C) e outra na área de resultados para Rotavírus (R).

**Positivo para Adenovírus:**

Uma linha colorida aparece na área de controlo (C) e outra na área de resultados para Adenovírus (A).

**Positivo para Rotavírus e Adenovírus:**

Uma linha colorida aparece na área de controlo (C) e duas outras linhas coloridas aparecem na área de resultados para Rotavírus (R) e para Adenovírus (A), respetivamente.

**Nota:**

A intensidade de cor nas áreas de teste (R/A) podem variar, dependendo da concentração dos antígenos alvo presentes na amostra. Assim, qualquer sombra de cor na área de teste deve ser considerada positiva. Para além disso, o nível de vírus não pode ser determinado por este teste qualitativo.

Resultado negativo:

Aparece uma linha colorida na área de controlo (C). Não aparece qualquer linha nas áreas de teste para Rotavírus e Adenovírus.

**11. Controlo de qualidade**

O teste cassete integra um procedimento de controlo interno. Uma linha colorida aparece na área de controlo (C) como controlo processual interno. Isto confirma a utilização de volume de amostra suficiente, da absorção adequada da membrana e das técnicas processuais corretas.

12. Limitações

- O teste NADAL® Rota-Adenovirus está concebido para ser utilizado apenas para o diagnóstico profissional *in-vitro* e deve ser utilizado unicamente para a deteção qualitativa de rotavírus e adenovírus.
- Como acontece com todos os testes de diagnóstico, um diagnóstico clínico definitivo não deve ser baseado no resultado de um único teste, porém deve ser realizado por um médico após reunir/avaliar todos os dados clínicos e laboratoriais.
- Se o resultado do teste for negativo e os sintomas clínicos persistirem, recomenda-se a realização de uma análise adicional utilizando outros métodos clínicos. Um resultado negativo não exclui, em qualquer momento, a possibilidade de infeção por rotavírus ou adenovírus.
- A fim de evitar-se pseudo-surtos, os resultados positivos dos testes em recém-nascidos devem ser confirmados através de um método de teste alternativo (PCR).
- Perante uma evidência de sangue na amostra fecal, não se pode rejeitar eventuais resultados falso-positivos e, portanto, uma verificação de resultados deverá ser considerada, usando-se um método alternativo de teste.

13. Características de desempenho

O desempenho do teste NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovírus) foi avaliado com 210 amostras clínicas recolhidas de crianças e jovens adultos, em comparação com o método ELISA. Os resultados encontram-se sumarizados na seguinte tabela:

Tabela: teste NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovírus) vs. ELISA

		Teste NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovírus)		
		+	-	Total
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	Total	82	128	210

Sensibilidade relativa: >98,8%

Especificidade relativa: >99,9%

Concordância global: >99,5%

O desempenho do teste NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavírus) foi avaliado com 242 amostras clínicas recolhidas de crianças e jovens adultos, em comparação com o método ELISA. Os resultados encontram-se sumarizados na seguinte tabela:

Tabela: teste NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavírus) vs. ELISA

		Teste NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavírus)		
		+	-	Total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	Total	79	163	242

Sensibilidade relativa: >96,3%

Especificidade relativa: >99,9%

Concordância global: >98,8%

Reatividade cruzada

Foi estudada a reatividade cruzada com os seguintes organismos a $1,0 \times 10^9$ organismos/ml. Estas amostras apresentaram-se negativas quando testadas com o teste NADAL® Rota-Adenovirus.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Group C Streptococcus</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Group B Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Referências

- Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
- Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
- Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.

- Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." *Journal of Clinical Microbiology*, June 1989; 27(6): 1155-1158.
- Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." *Am. J. Clin. Pathol.* 1994; 101:742-746.
- Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* 2016; 49:947e954
- Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. *American Journal of Infection Control* 2018; 46(12):1411-1413

Rev. 2, 2019-05-23 AL

1. Účel použití

NADAL® Rota-Adenovirus test je rychlý, vizuálně vyhodnotitelný imunotest pro kvalitativní detekci rotavirů a adenovirů ve vzorcích lidské stolice. Test určen k použití jako pomůcka k diagnóze rota- či adenovirových infekcí. Test je určen pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.

2. Úvod a klinický význam

Rotavirus je neobvyklejší patogen, který způsobuje akutní gastroenteritidu, zejména u malých dětí. Jeho odhalení v roce 1973 a zjištění jeho spojitosti s dětskou gastroenteritidou znamenaly důležitý pokrok ve výzkumu akutní nebakteriální gastroenteritidy. Rotavirus se přenáší orálně-fekální cestou a má inkubační dobu 1-3 dny. Vzorky odebrané mezi druhým a pátým dnem nemoci jsou ideální pro detekci antigenů, rotaviry však mohou být detekovány dokud průjem přetrvává. U rizikových skupin jako jsou kojenci, staří lidé nebo lidé s oslabenou imunitou může být onemocnění rotavirovou gastroenteritidou smrtelné. V mírných klimatických pásmech se rotavirové infekce vyskytují zejména v zimním období. Byly zaznamenány jak endemie tak i epidemie s tisíci postiženými. U přibližně 50% dětí, které byly hospitalizovány s akutní gastroenteritidou byly prokázány rotaviry. Viry se množí v buněčném jádře a vyvolávají charakteristický cytopatický efekt (CPE). Vzhledem k tomu, že jsou rotaviry velmi těžko kultivovatelné, je izolace viru pro diagnostické účely neobvyklá. Místo toho byly vyvinuty různé jiné technologie, které umožní detekci rotavirů ze vzorků stolice.

Akutní průjemová onemocnění jsou celosvětově hlavní příčinou úmrtnosti u malých dětí a jednou z nejdůležitějších příčin úmrtnosti v rozvojových zemích. Výzkum ukázal, že enterické adenoviry, zejména Ad40 a Ad41, jsou jednou z hlavních příčin průjmů u dětí, hned po rotavirech. Tyto virální patogeny byly identifikovány po celém světě a mohou zapříčinit průjem u dětí v průběhu celého roku. Infekce jsou často pozorovány u dětí mladších dvou let, vyskytují se ale také u pacientů jiných věkových kategorií. Další studie ukazují, že adenoviry jsou spojovány se 4-15 % všech hospitalizovaných případů virové gastroenteritidy.

Rychlá a přesná diagnóza gastroenteritidy způsobené adenoviry pomáhá k etiologickému stanovení gastroenteritidy a s ní spojeným managementem pacientů. Jiné diagnostické metody, jako elektronová mikroskopie (EM) a hybridizace nukleové kyseliny jsou drahé a velmi pracné. Vzhledem k tomu, že adenovirové infekce po určité době samy odezní, mohou být takto drahé a pracné metody zbytečné.

3. Princip testu

Test NADAL® Rota-Adenovirus je určen k detekci rotavirů a adenovirů prostřednictvím vizuální interpretace zbarvení na proužku.

V tomto testu jsou rotaviry a adenoviry detekovány za pomoci specifických protilátek. Po přidání vzorku (puřem zředěná stolice) se barevně označené protilátky naváží na příslušný virus pokud je přítomen ve vzorku. Když tyto komplexy protilátek a virů putují pomocí kapilárních sil membránou, jsou zachyceny jinou protilátkou specifickou proti rotavirům nebo adenovirům v oblasti testovací linie pro příslušný virus. Pokud je ve vzorku přítomen rotavirus, objeví se červená testovací linie v oblasti označené "R". Pokud je ve vzorku přítomen

adenovirus, objeví se červené testovací linie v oblasti označené "A". Pokud jsou přítomny oba viry (smíšená infekce) objeví se dvě testovací linie. Pokud není přítomen žádný virus, nenaváže se barevně označená protilátka na specifické protilátky proti viru v oblasti testovací linie. Neutvoří se žádná červené testovací linie. Přítomnost červené testovací linie indikuje pozitivní výsledek, zatímco její absence indikuje negativní výsledek.

Jako procedurální kontrola slouží červená linie, která se vždy objeví v oblasti kontrolní linie a indikuje, že bylo použito dostatečné množství vzorku a že membrána byla funguje správně.

4. Činidla a dodávané materiály

- 20 individuálně balených NADAL® Rota-Adenovirus testovacích kazet
- 20 zkumavek na odběr vzorku obsahujících ředící puřr na odběr a zředění vzorku
- 20 jednorázových pipet pro odběr velmi řidkých vzorků
- 1 Návod k použití

5. Další potřebné materiály

Pacient:

Pomůcka na odběr vzorku stolice.

Aby se zamezilo zředění nebo kontaminaci s např. čistícími prostředky, musí být zaručeno, že vzorky nepřijdou do kontaktu s vodou v toaletní míse. nal von minden GmbH může na požádání dodat speciální pomůcky na odběr vzorku.

Klinika nebo laboratoř:

- Savý papír pro odlomení špičky zkumavky pro odběr vzorku.
- Stopky

6. Skladování a stabilita

Skládajte test v originálním balení při pokojové teplotě nebo chlazené (2-30°C).

Za těchto podmínek mají testovací kazeta a puřr na zředění vzorku trvanlivost do doby expirace. Testovací kazeta musí zůstat v zapečetěné fólii obsahující vysoušedlo až do okamžiku použití.

Nezmrazujte.

Nepoužívejte po uplynutí data expirace.

7. Upozornění a bezpečnostní opatření

- Pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.
- K jednorázovému použití. Nepoužívejte testy opakovaně.
- Nezaměňujte nebo nemíchejte činidla z různých šarží.
- Nepoužívejte je-li ochranná fólie testu poškozena.
- Nepoužívejte po uplynutí data expirace.
- Tento test obsahuje produkty živočišného původu. Certifikovaná znalost původu a/nebo zdravotního stavu zvířat nezaručuje plně absenci přenosných patogenů. Je tudíž doporučeno s těmito produkty zacházet jako s potenciálně infekčními a řídit se běžnými bezpečnostními opatřeními (např. nepolykat nebo nevdechovat).
- Aby se zabránilo křížové kontaminaci vzorků, používejte pro každý vzorek novou nádobu.
- Nejezte, nepijte a nekuřte v prostorách, kde se zachází se vzorky nebo testovacími sadami. Doporučujeme používat ochranný oděv, jako laboratorní plášť, jednorázové rukavice

ochranné brýle. Během testování dodržujte zavedená opatření pro prevenci mikrobiologických rizik. Řiďte se standardními postupy pro správnou likvidaci vzorků v souladu s místními předpisy.

- Pufr na zředění vzorku obsahuje malé množství azidu sodného, který může reagovat s oloveným nebo měděným potrubím a vytvořit potenciálně výbušné kovové azidy. Aby se zabránilo tvorbě azidů, propláchněte potrubí při likvidaci extrakčního roztoku nebo extrahovaných vzorků velkým množstvím vody.
- Vlhkost a teplota mohou nepříznivě ovlivnit výsledky testu.
- Komponenty testu (např. Protílátky/chemikálie) nepředstavují žádné nebezpečí pokud je test použit dle návodu.
- Držte se důkladně návodu k použití. Informujte pacienty jak postupovat při odběru vzorku a při ředění vzorku stolice.

8. Odběr a příprava vzorku

Podmínky pro optimální odběr vzorku

Test NADAL® Rota-Adenovirus je určen k použití s lidskými vzorky stolice, které byly zředěny dodávaným puforem.

Detekce viru se podaří nejlépe, je-li vzorek odebrán krátce po nástupu symptomů onemocnění. Bylo zjištěno, že maximální vylučování rotavirů ve stolici pacientů postižených gastroenteritidou nastává 2 až 5 dní po nástupu symptomů. V případě adenoviru nastává maximální vylučování cca 3-13 dnů po nástupu symptomů. Pokud je vzorek odebrán delší dobu po nástupu průjemových symptomů, je možné, že množství antigenů nebude dostačující k získání pozitivního výsledku nebo že detekované antigeny nesouvisí s průjemovým onemocněním.

Vzorky stolice by měly být skladovány při 2-8°C ihned po odběru a použity do 48 hodin. Delší skladování je možné při -20°C. Vyvarujte se opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorku.

Odběr a příprava vzorku pacientem

Pro odběr vzorku stolice obdrží pacient jednu ze zkumavek na odběr vzorku z testovací sady a jednu jednorázovou pipetu. Vzorky stolice by měly být odebírány následujícím způsobem:

1. Pro odběr vzorku může být použita jakákoliv čistá a suchá nádoba nebo vodu odpuzující papír. Zajistěte, aby vzorek stolice nepřišel do přímého kontaktu s vodou v toaletní míse, aby se předešlo zředění nebo kontaminaci s čisticími prostředky. Množství 1-2 ml nebo 1-2 g jsou dostačující.
2. Přeneste malé množství stolice do zkumavky na odběr vzorku.



V případě pevného vzorku:

Odsávejte uzavřít zkumavku na odběr vzorku, poté zapichnete sondu na odběr vzorku do alespoň 3 různých míst na vzorku stolice a odeberte cca 50 mg stolice (odpovídající 1/4 hrášku).



V případě tekutého vzorku:

Pokud je stolice příliš řídká nato, aby se přichýtila na sondu, použijte přiložené jednorázové pipety. Držte pipetu vertikálně, nasajte stolicí a přeneste 2 kapky (cca 50 µl) do zkumavky na odběr vzorku obsahující ředící pufr.

3. Umístěte sondu zpět do zkumavky a uzavřít řádně zašroubujte.
4. Zatřepete zkumavkou na odběr vzorku, aby se vzorek promíchal s ředícím puforem. Dávejte pozor, aby se neodlomila špička zkumavky na odběr vzorku.
5. Vložte zkumavku na odběr vzorku do plastového sáčku. Uložte na chladném místě a vraťte lékaři během 24 hodin.

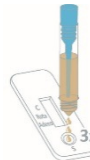
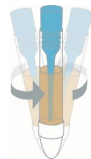


Poznámka:

Pokud si pacient nepřeje zředit vzorek stolice v odběrové zkumavce sám, může vrátit nádobu s nezředěným vzorkem stolice lékaři. Přenos vzorku do pufru ve zkumavce na odběr vzorku může být proveden pracovníky ordinace nebo laboratoře podle výše uvedeného návodu.

9. Provedení testu

1. Nechte test a zředěný vzorek stolice před testováním dosáhnout pokojové teploty (15-30°C).
2. Až budete připraveni provést test, vyjměte testovací kazetu z ochranné fólie. Aby se zabránilo srážení vlhkosti na membráně, musí mít testovací kazeta pokojovou teplotu. Označte testovací kazetu na vyznačeném místě identifikačními údaji pacienta nebo kontrolním označením.
3. Protřepete řádně odběrovou zkumavku, aby se důkladně promíchal vzorek stolice s ředícím puforem.
4. Za použití svého papíru odlomte špičku zkumavky.
5. Držte odběrovou zkumavku vertikálně a naneste 2-3 kapky směsi do kulatého otvoru na vzorek (S) na testovací kazetě tak, že jemně zmačknete stěny zkumavky. Zamezte utváření vzduchových bublin v otvoru pro vzorek nebo vstříknutí tekutiny do obdélníkového výsledkového okénka.
6. Spusťte stopky. Po iniciaci testovacího procesu uvidíte jak červeně zbarvená tekutina putuje po membráně.



Vyčkejte až se objeví barevná/barevné linie. Výsledek testu by měl být odečten po 10 minutách. Silně pozitivní výsledky mohou být viditelné dříve. Po 20 minutách již výsledek neodečítejte.

10. Vyhodnocení výsledků

Odečtěte výsledky testu tím, že vyhodnotíte barevné linie, která se objeví ve výsledkovém okně.

Pozitivní výsledek pro rotavirus, adenovirus nebo oba viry.**Rotavirus pozitivní:**

Jedna barevná linie se zobrazí v oblasti kontrolní linie (C) a druhá barevná linie se zobrazí v oblasti testovací linie pro Rotavirus (R).

**Adenovirus pozitivní:**

Jedna barevná linie se zobrazí v oblasti kontrolní linie (C) a druhá barevná linie se zobrazí v oblasti testovací linie pro Adenovirus (A).

**Rotavirus a Adenovirus pozitivní:**

Jedna barevná linie se zobrazí v oblasti kontrolní linie (C) a dvě další barevné linie se zobrazí v oblastech testovacích linií pro Rotavirus (R) a Adenovirus (A).

**Poznámka:**

Intenzita barvy v oblastech testovacích linií (R/A) se může lišit v závislosti na koncentraci cílových antigenů přítomných ve vzorku. Každý barevný odstín v oblasti testovací linie by proto měl být vyhodnocen jako pozitivní. Tímto kvalitativním test nelze určit množství viru.

Negativní výsledek:

V oblasti kontrolní linie (C) se objeví barevná linie. V oblastech testovacích linií pro Rotavirus a Adenovirus se neobjeví žádná linie.

**Neplatný výsledek:**

Neobjeví se žádná testovací linie (C). Test, na kterém se neobjeví kontrolní linie, v určeném čase musí být zlikvidován. Zrevidujte postup a opakujte s novým testem. Pokud problém přetrvává, přestaňte používat testovací sadu a kontaktujte svého distributora.



Nedostatečné množství vzorku, nedostatečná vzlínání vzorku po membráně nebo nesprávný postup při testování jsou nejčastějšími příčinami nezobrazení kontrolní linie. Zrevidujte testovací postup a proveďte test znovu s novou kazetou. Pokud bylo vzlínání vzorku znemožněno přítomností viditelných částic, měly by tyto být odstraněny odstředěním nebo sedimentací. Přeneste část vzorku do zkumavky, nechte částice sedimentovat krátkým odstředěním a nakapejte pipetou cca 80-120 µl supernatantu do otvoru pro vzorek na testovací kazetě. Alternativně můžete nechat částice usadit v odběrové zkumavce ve svislé poloze a použít 80-120 µl tekutiny z hladiny. Pokud problém přetrvává, přestaňte používat testovací sadu a kontaktujte svého distributora.

Poznámka: Při testování vzorku, se pozadí může zbarvit lehké do žluta, což je způsobeno barvou vzorku stolice. Toto zbarvení je přijatelné, pokud není narušena možnost interpretaci výsledku testu. Test je neplatný pokud se pozadí nevyjasní a je zamezeno odečítání výsledku.

11. Kontrola kvality

Součástí testu je interní procedurální kontrola. Barevná linie, která se objeví v oblasti kontrolní linie (C) je interní

procedurální kontrola. Svědčí o dostatečném množství vzorku, správné funkci membrány a správném postupu při testování.

12. Omezení

- Test NADAL® Rota-Adenovirus je určen pro profesionální *in-vitro* diagnostiku a měl by být používán pouze pro kvalitativní detekci rotavirů a adenovirů.
- Stejně jako u všech diagnostických testů by konečná diagnóza neměla být založena na výsledku jednoho testu, ale měla by být stanovena lékařem po zvážení všech klinických i laboratorních nálezů.
- Je-li výsledek testu negativní, ale klinické symptomy přetrvávají, je doporučeno provést další testy za pomoci jiné metody. Negativní výsledek za žádných okolností nevylučuje možnost infekce rotaviry či adenoviry.
- Aby se zabránilo vypuknutí pseudoepidemie, musí být pozitivní výsledky testu u novorozenců potvrzeny pomocí alternativní testovací metody (PCR).
- Pokud je ve vzorcích stolice přítomna viditelná krev, nelze vyloučit falešně pozitivní výsledky, a proto je třeba je ověřit pomocí alternativní testovací metody.

13. Výkonnostní charakteristiky

Výkonnost testu NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) byla hodnocena v porovnání s ELISA za pomoci 210 klinických vzorků odebraných od dětí a mladistvých. Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Tabulka: Test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) vs. ELISA

		Test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus)		
		+	-	Celkem
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	Celkem	82	128	210

Relativní senzitivita: >98.8%

Relativní specifita: >99.9%

Celková shoda: >99.5%

Výkonnost testu NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) byla hodnocena v porovnání s ELISA za pomoci 242 klinických vzorků odebraných od dětí a mladistvých. Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Tabulka: Test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) vs. ELISA

		Test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus)		
		+	-	Celkem
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	Celkem	79	163	242

Relativní senzitivita: >96.3%

Relativní specifita:

Celková shoda:

Křížová reaktivita

Křížová reaktivita s níže uvedenými organismy byla zjišťována při 1.0×10^9 organismů/ml. Vzorky byly při testování testem NADAL® Rota-Adenovirus vyhodnoceny jako negativní.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Streptokok skupiny C
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>

<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitides</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
Streptokok skupiny B	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Reference

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 TF

1. Bruksområde

NADAL® Rota-Adenovirus Test er en immunologisk hurtigstest for kvalitativ deteksjon av rotavirus og adenovirus i humane avføringsprøver. Denne testen er ment å bli brukt som hjelpemiddel ved diagnosen rotavirus- og adenovirus-infeksjoner. Testen er kun beregnet for profesjonell *in-vitro* diagnostisk bruk.

2. Introduksjon og klinisk signifikans

Rotavirus er det vanligste patogenet som er ansvarlig for akutt gastroenteritt, hovedsakelig hos små barn. Dens oppdagelse i 1973 og forening med infantil gastroenteritt representerte en svært viktig fremgang i studien av akutt ikke-bakteriell gastroenteritt. Rotavirus overføres via oro-faecal ruten med en inkubasjonsperiode på 1-3 dager. Selv om prøvene samlet mellom den andre og femte dagen med sykdom er ideelle for antigeneteksjon, kan rotavirus fortsatt oppdages mens diaré fortsetter. Rotaviral gastroenteritt kan føre til dødelighet for utsatte grupper, som spedbarn, eldre og immun-kompromitterte pasienter. I moderat klima forekommer rotavirale infeksjoner hovedsakelig i vintermånedene. Endemikk og epidemier som påvirker tusenvis av mennesker har blitt rapportert. Opp til 50% av de analyserte prøvene fra sykehuspasienter (barn) som lider av akutt entrisk sykdom var positive for rotavirus. Virusene replikerer i cellekjernen og har en tendens til å produsere en karakteristisk cytopatisk effekt (CPE). Fordi rotavirus er ekstremt vanskelig å kulturerer, er det uvanlig å isolere viruset til diagnose av infeksjon. I stedet har en rekke teknikker blitt utviklet for å oppdage rotavirus i avføring.

Akutt diaré/sykdom hos små barn er en viktig årsak til sykdom over hele verden og er en ledende årsak til dødelighet i utviklingsland. Forskning har vist at enteriske adenovirus, som Ad40 og Ad41, også er en av de viktigste årsakene til diaré hos barn, i tillegg til rotaviruset. Disse viruspatogenene er blitt identifisert over hele verden og kan forårsake diaré hos barn hele året. Infeksjoner er hyppigst oppdaget hos barn under to år, men har også blitt funnet hos pasienter i alle aldre. Videre studier tyder på at adenovirus er assosiert med 4-15% av alle sykehusinnlagte pasienter med viral gastroenteritt.

Hurtig og nøyaktig diagnose av gastroenteritt forårsaket av adenovirus hjelper med å etablere etiologi av gastroenteritt og tilhørende pasientbehandling. Andre diagnostiske teknikker som elektronmikroskopi (EM) og nukleinsyrehybridisering er dyre og arbeidsintensive. På grunn av den selvbegrensede arten av adenoviral infeksjon, trenger ikke slike dyre og arbeidskrevende tester være nødvendig.

3. Testprinsipp

NADAL® Rota-Adenovirus Test er utviklet for å detektere rotavirus og adenovirus gjennom visuell inspeksjon av fargeutvikling på den indre strimmel.

I denne analysen oppdages rotavirus og adenovirus ved hjelp av spesifikke antistoffer. Etter tilsetning av prøve (avføring fortynnet i buffer) binder de fargemerkede antistoffene spesifikt til det respektive virus dersom det er tilstede i prøven. Når disse antistoff-viruskompleksene migrerer langs membranen ved kapillarvirkning, blir de fanget av et annet antistoff spesifikt mot rotavirus eller adenovirus i

testlinjeområdet for det respektive virus. Hvis rotavirus er til stede i prøven, utvikles en rød testlinje i den "R"-merkede regionen. Hvis adenovirus er tilstede i prøven, utvikles en rød testlinje i den "A"-merkede regionen. Hvis begge virusene er tilstede (blandet infeksjon) vil to testlinjer utvikles. Hvis det ikke foreligger virus, vil ikke det fargemerkede antistoffet binde seg til de virussspesifikke antistoffene i testlinjeområdet. Ingen rød test linje kommer til syne. Tilstedeværelsen av denne fargede linjen indikerer et positivt resultat, mens dens fravær indikerer et negativt resultat.

Som en prosedyrekontroll, skal en farget linje alltid vises i kontrollinjeområdet, noe som indikerer at tilstrekkelig volum av prøven er tilsatt og membranvike har oppstått.

4. Reagenser og levert Materialet

- 20 individuelt forpakket NADAL® Rota-Adenovirus testkassetter.
- 20 prøveinnsamlingsrør med prøvefortynningsbuffer for prøveinnsamling og fortynning.
- 20 disponible pipetter for prøveinnsamling av ekstremt flytende prøver
- 1 Pakkeseddel

5. Tilleggsmaterialer

Pasient:

Midler til å samle en avføringeksempel.

Det bør sikres at prøver ikke har kontakt med vannet i toalettet for å unngå fortynning eller forurensning med e. g. vaskemidler. Spesielle avføringsinnsamlings enheter kan leveres av nal von minden GmbH på forespørsel.

Klinikk eller lab:

- Papir for å bryte spissen av prøveinnsamlingsrør
- Timer

6. Oppbevaring & Stabilitet

Oppbevar testen som pakket enten ved romtemperatur eller i kjøleskap (2-30°C).

Under disse forhold er testkassetten og prøvefortynningsmiddelbufferen stabil til utløpsdatoen. Testkassetten bør forbli i den forseglede emballasjen som inneholder et tørkemiddel helt fram til bruk.

Skal ikke fryses.

Ikke bruk etter utløpsdatoen.

7. Advarsler og Forholdsregler

- Bare for profesjonell *in-vitro* diagnostisk bruk.
- For engangsbruk. Ikke gjenbruk tester.
- Ikke utveksle eller bland reagenser fra forskjellige partier.
- Ikke bruk testen om emballasjen er skadet.
- Bruk ikke testen etter utløpsdatoen.
- Testsettet inneholder produkter av animalsk opprinnelse. Sertifisert kunnskap om opprinnelse og/eller sanitær tilstand av dyrene garanterer ikke fravær av smittestoffer. Det anbefales derfor at disse produktene behandles som potensielt smittsomme og håndteres ved å observere vanlige sikkerhetstiltak (f.eks. Ikke inntas eller innåndes).
- Unngå krysskontaminering av prøver ved hjelp av en ny prøveinnsamlingsbeholder for hver analyse som utføres.

- Ikke spis, drikk eller røyk i området der prøvene eller prøvekit håndteres. Beskyttelsesklær som laboratoriejakker, engangshansker og beskyttende briller anbefales. Følg etablerte forholdsregler mot mikrobiologiske farer under utføringen av analysen. Følg standard prosedyrer for riktig avhending av prøver i henhold til lokale forskrifter.
- Prøvefortynnings bufferen inneholder en liten mengde av natrium azide som kan reagere med bly eller kobber vann for å danne potensielt eksplosive metallazider. Ved avhending av ekstraksjonsoppløsning eller ekstraherte prøver, skyl alltid med store mengder vann for å forhindre azidoppygging.
- Fuktighet og temperatur kan påvirke resultatene.
- Komponentene i testen (for eksempel antistoffer/kjemikalier) forårsaker ingen fare hvis testen brukes i henhold til instruksjonene.
- Følg instruksjonen nøye. Informer pasientene om prosedyrene for innsamling og fortynning av avføringprøven.

8. Prøvetaking og Klargjøring

Betingelser for optimal prøveinnsamling

NADAL® Rota-Adenovirus Tester kan beregnet for bruk med humane avføringsprøvee som er fortynnet i bufferen.

Viral deteksjon settes i gang ved å samle prøver ved utbrudd av diarésymptomer. Det har blitt rapportert at maksimal utskillelse av rotavirus i avføring hos pasienter med gastroenteritt oppstår 2-5 dager etter symptomstart. For adenovirus er maksimal utskillelse ca 3-13 dager etter symptomstart. Hvis prøvene samles lenge etter utbruddet av diarésymptomer, kan mengden av antigen ikke være tilstrekkelig til å oppnå et positivt resultat, eller de oppdagede antigenene trenger ikke nødvendigvis å knyttes til diaré episoden.

Avføringsprøver bør oppbevares i 2-8°C umiddelbart etter innsamling og analysen bør utføres i løpet av 48 timer. Lengre oppbevaring er mulig ved -20 ° C. Gjentatt frysing og tining av prøver bør unngås.

Prøveinnsamling og forberedelser av pasienten
Ved innsamling av avføring blir pasienten gitt ett av prøveinnsamlingsrørene i testsettet og en engangspipette. Avføringsprøver skal samles på følgende måte:

1. En ren og tørr beholder eller et vannavvisende papir kan brukes til prøveinnsamling. Sørg for at avføringen ikke har direkte kontakt med toalettet for å unngå fortynning eller forurensning med vaskemidler. En mengde på 1-2 ml eller 1-2 g avføring er tilstrekkelig.
2. Overfør en liten del av avføringen til prøveinnsamlingsrøret:



For faste prøver:

Skrut av lokket på prøveopsamlingsrøret, og stikk deretter prøveinnsamlingsapplikatoren tilfeldig på minst 3 forskjellige steder i avføringsprøven for å samle ca. 50 mg avføring (tilsvarende 1/4 av en ert).



For væskeprøver:

Hvis avføringen er for rinnende for å holde fast på applikatoren, kan den medfølgende disponible pipetten brukes. Hold pipetten vertikalt, aspirer litt avføring, og overfør deretter 2 dråper (ca. 50 µl) inn i prøveinnsamlingsrøret som inneholder fortynningsbufferen.

3. Plasser applikatoren tilbake i røret og skru på lokket tett.
4. Rist prøvetakingsrøret kraftig for å blande prøven og den prøvefortynnede bufferen. Pass på at du ikke brykker spissen av fortynningsrøret.
5. Legg prøveinnsamlingsrøret i en plastpose. Oppbevar det på et kjølig sted og returner det til klinikken innen 24 timer.

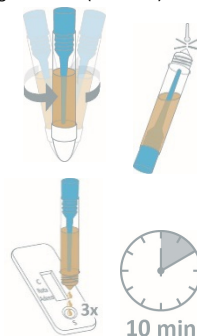


Merk:

Hvis pasienten føler seg ubekvem med å fortynne avføringsprøven i innsamlingsrøret selv, kan han/hun returnere en beholder med ubehandlet avføring til klinikken. Overføringen av prøven til bufferen i prøveopsamlingsrøret kan da utføres som beskrevet ovenfor av personell fra klinikken eller laboratoriet.

9. Test Prosedyre

1. La testenheten og den fortynnede avføringen oppnå romtemperatur (15-30°C) før analysen utføres.
2. Fjern testkassetten fra emballasjen like før analysen skal utføres. Testkassetten må oppnå romtemperatur for å forhindre kondensering av fuktighet på membranen. Merk testkassetten med pasient eller kontrollidentifikasjon.
3. Rist prøveinnsamlingsrøret grundig for å sikre riktig blanding av prøven med fortynningsmiddelet (bufferen).
4. Ved hjelp av et stykke papir, bryt tuppen av innsamlingsrøret ved hjelp av en vridende bevegelse.
5. Hold opsamlingsrøret vertikalt og dispensere 2-3 dråper løsning i prøvekassettenes runde prøvebrønn (S) ved å påføre et forsiktig trykk på rørets vegger. Unngå luftbobler i prøvebrønnen eller sprut av væske inn i det rektangulære resultatvinduet.
6. Start timer. Når testen begynner å virke vil en rødaktig farget væskefront bevege seg over membranen.



Vent til den fargede linje(n) vises. Resultatet må leses etter 10 minutter. Klare positive resultat kan observeres tidligere. Ikke tolk resultatet etter mer enn 20 minutter.

10. Tolkning av resultatet

Testresultatene tolkes ut i fra de fargede linjene som utvikles i testresultatvinduet.

Positive resultat Rotavirus, Adenovirus eller begge virus

Rotavirus Positiv:

En farget linje utvikles i kontroll-linjeområdet (C), og en annen farget linje utvikles i testlinjeområdet for Rotavirus (R).



Adenovirus Positiv:

En farget linje utvikles i kontroll-linjeområdet (C), og en annen farget linje utvikles i testlinjeområdet for Adenovirus (A).



Rotavirus og Adenovirus Positiv:

En farget linje utvikles i kontroll-linjeområdet (C) og to andre fargede linjer utvikles i henholdsvis testlinjene for henholdsvis Rotavirus (R) og Adenovirus (A).



Merk:

Fargens intensitet i testlinje regionene (R/A) kan variere avhengig av konsentrasjonen av antigenene tilstede i prøven. Derfor bør alle nyanser av fargen i testlinjeområdet vurderes som et positivt test resultat. Mengden av viruset tilstede i prøven kan ikke bestemmes av denne kvalitative testen.

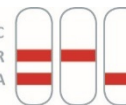
Negative resultat:

En grønn linje utvikler seg i kontroll-linjeområdet (C). Ingen linje utvikles i testlinjeområder for Rotavirus og Adenovirus.



Ugyldig resultat:

Kontrolllinjen (C) uteblir. Resultater fra tester som ikke har produsert en kontroll linje på den angitte lesetid må kastes. Gå gjennom prosedyren og gjenta testen med en ny testkassett. Hvis problemet vedvarer må du slutte å bruke testsettet umiddelbart og kontakte din forhandler.



Utilstrekkelig prøvevolum eller feil prosedyreteknikk er de vanligste årsakene til manglende kontrolllinje. Gå gjennom prosedyren og gjenta testen med en ny testkassett. Hvis tilstedeværelsen av synlige partikler hemmet prøvemigrasjonen, bør de fjernes ved sentrifugering eller sedimentering. Overfør en del av prøven til en tube, sedimenter partiklen med en kort sentrifugering og pipetter ca. 80-120 µl av supernatant i prøvebrønnen på den nye test kassetten. Alternativt tillat partiklene å legge seg i innsamlingsrøret for oppsamling av prøver og bruk 80-120 µl fra væskens overflate. Hvis problemet vedvarer, må du slutte å bruke testsettet umiddelbart og ta kontakt med din lokale forhandler.

Merk: Når avføringsprøver analyseres, kan bakgrunnen virke litt gulaktig på grunn av avføringsprøvens farge. Dette er akseptabelt så lenge det ikke forstyrrer tolkningen av testresultatet. Testen er ugyldig hvis bakgrunnen tilslørrer lesing av resultatet.

11. Kvalitetskontroll

En intern prosedyrekontroll er inkludert i testkassetten. En farget linje som vises i kontrolllinjeområdet (C) fungerer som en intern prosesskontroll. Det bekrefter tilstrekkelig prøvevolum og riktig prosedyreteknikk.

12. Begrensninger

- NADAL® Rota-Adenovirus testen er utviklet for profesjonell *in-vitro* diagnostisk bruk, og bør kun brukes til kvalitativ deteksjon av rotavirus og adenovirus.
- Som med alle diagnostiske tester, bør en definitiv klinisk diagnose ikke være basert på resultatene av en enkelt test, men bør utføres av lege etter at alle kliniske funn og laboratoriefunn har blitt evaluert.
- Hvis testresultatet er negativt og kliniske symptomer vedvarer anbefales ytterligere testing ved bruk av andre kliniske metoder. Et negativt resultat utelukker ikke på noe tidspunkt muligheten for rotavirus eller adenovirus injeksjon.
- For å forhindre pseudo-utbrudd, må positive testresultater i nyfødte bekrefte ved hjelp av en alternativ testmetode (PCR).
- Hvis det er synlig blod i faecalprøver, kan ikke falske positive resultater utelukkes og må derfor verifiseres ved hjelp av en alternativ testmetode.

13. Ytelseskarakteristikk

Utførelsen av NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus) er evaluert med 210 kliniske prøver samlet fra barn og unge og sammenlignet med referansemotoden ELISA. Resultatene er presentert i tabellen nedenfor:

Tabell: NADAL® Rota-Adenovirus test (Adenovirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	Total	82	128	210

Relativ sensitivitet: >98,8%

Relativ spesifisitet: >99,9%

Total overensstemmelse: >99,9%

Utførelsen av NADAL® Rotavirus Test (Rotavirus) er evaluert med 242 kliniske prøver samlet fra barn og unge og sammenlignet med referansemotoden ELISA. Resultatene er presentert i tabellen nedenfor:

Tabell: Rota-Adenovirus test (Rotavirus). ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	Total	79	163	242

Relativ sensitivitet: >96,3%

Relativ spesifisitet: >99,9%

Total overensstemmelse: >98,8%

Kryssreaktivitet

Kryssreaktivitet med de organismer som er listet opp nedenfor har blitt studert med 1.0×10^9 organisms/ml. Disse prøvene











ble funnet negative når de ble testet med NADAL® Rota-Adenovirus testen.











<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Gruppe C Streptokokker</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Klamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Gruppe B Streptokokker</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Referanser

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 KD

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	In-vitro-Diagnostika	In-vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Tylko do diagnostyki in vitro
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Code du lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk	Norsk
	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning	CE standardisert
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen	Les bruksanvisning nøye
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro	In vitro - diagnostikkään tarkoitettu lääkinnällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för in vitro-diagnostik	Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik	In-vitro diagnostic medisinsk enhet
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperatur-begränsning	Temperatuurlimiet	Temperatur-begrænsning	Temperatur begrensning
	Código do lote	Kód šarže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchkode	Merking
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertkäyttöinen	Får inte återanvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges	Må ikke brukes om igjen
	Prazo de validade	Spotřebuje do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato	Tidtaking
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Best il l ingsnummer	Katalog nummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant	Produsent
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test	Tilstrekkelig for<n> tester

Our Teams

Germany:

Regensburg

Tel: +49 941 290 10-0
Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0
Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29
Free Tel: 0800 291 565
Fax: +49 290 10-50
Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18
Free Tel – UK: 0808 234 1237
Free Tel – IRE: 1800 555 080
Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240
France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720
Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82
Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux. Tel: 800 211 16
Lux. Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759
Free Tel: 900 938 315
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34
Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44
Free Tel: 00 800 491 15 95
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735
Tel. Verde: 800 849 230
Fax: +49 941 290 10-50
Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600
Free Tel: 0800 0222 890
Fax: +31 70 30 30 775
Free Fax: 0800 024 9519

Nordic countries (Finland, Norway, Sweden, Denmark):

Tel: +31 703075 607
Free Tel: +45 80 88 87 53
Tax: +31 703030 775

Laboratory Diagnostics Team:

Tel: +49 941 290 10-40
Fax: +49 941 290 10-50



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com

Fon: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1

1. ZASTOSOWANIE

Test NADAL® Kalprotektyna jest szybkim testem immunochromatograficznym do jakościowego oznaczania kalprotektyny w próbkach ludzkiego kału. Test może być pomocny w diagnozie stanów zapalnych przewodu pokarmowego.

2. WPROWADZENIE

Kalprotektyna jest białkiem wiążącym wapń, stanowi do 5% wszystkich białek i 60% białek cytozolu neutrofilii. Białko to posiada właściwości bakteriostatyczne i grzybobójcze, a jego stężenie w kale jest sześć razy wyższe niż w osoczu. Biomarker ten jest wykorzystywany do wykrywania nieswoistego zapalenia jelit. Do nieswoistego zapalenia jelit można zaliczyć chorobę Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego, które są związane z podwyższonym poziomem neutrofilii.

Test na kalprotektynę w kale jest użyteczny w różnicowaniu chorób narządowych od chorób układu pokarmowego (zespołu jelita drażliwego). Jest to szybki, nieinwazyjny biomarker, który jest szczególnie pomocny w przypadku dzieci wymagających użycia znieczulenia ogólnego, podczas zabiegu kolonoskopii.

Kalprotektyna w kale jest również używana do wykrywania nawrotów choroby.

3. ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Test NADAL® Kalprotektyna jest jakościowym testem immunologicznym służącym do wykrywania kalprotektyny w próbkach kału. W obszarze linii testowych membrana pokryta jest przeciwciałami monoklonalnymi przeciwko kalprotektynie. Podczas testu próbka reaguje z cząsteczkami pokrytymi przeciwciałami przeciwko kalprotektynie utworzonymi na pasku testowym. Mieszanina przemieszcza się po membranie za sprawą sił kapilarnych. W przypadku próby pozytywnej, swoiste przeciwciała obecne na membranie reagują z mieszaniną koniugatu i uwidacznia się kolorowa linia. Zielona linia pojawia się zawsze w polu kontrolnym i wskazuje, czy dodana ilość badanej próbki jest wystarczająca. Wskazuje to na właściwy przepływ reagentów i służy do wewnętrznej kontroli poprawności testu.

4. CZĘŚCI SKŁADOWE ZESTAWU

- Kasety testowe NADAL® Kalprotektyna
- Instrukcja obsługi
- Probówka na próbkę z buforem

5. MATERIAŁY POTRZEBNE NIEZAWARTE W ZESTAWIE

- Pojemnik na próbkę
- Jednorazowe rękawiczki
- Stoper

6. PRZECHOWYWANIE I TRWAŁOŚĆ

Test należy przechowywać w zamkniętym opakowaniu w lodówce lub w temperaturze pokojowej (2-30°C). Test jest przydatny do użytku do daty ważności wydrukowanej na opakowaniu. Test musi być przechowywany w zamkniętym opakowaniu do momentu użycia. Nie zamrażać.

7. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki in vitro.
- Nie używać po upływie daty ważności.
- Test powinien pozostać w zamkniętym opakowaniu do momentu użycia.
- Nie używać testu w przypadku stwierdzenia uszkodzenia torebki.
- Przestrzegać zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej. Podczas przeprowadzania testu używać odzieży ochronnej, takiej jak fartuch laboratoryjny oraz rękawiczki jednorazowe. Nie jeść, nie pić i nie palić w pobliżu próbek i testu.
- Wszystkie próbki należy traktować jako potencjalnie niebezpieczne i należy się z nimi obchodzić jak z czynnikiem zakaźnym.
- Po wykonaniu badania test należy usunąć do pojemnika na odpady biologicznie niebezpieczne.
- Test musi zostać przeprowadzony w ciągu 2 godzin od momentu otwarcia opakowania.

8. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE

Pobrać odpowiednią ilość kału (1-2 g lub 1 ml próbki płynnej). Próbkę kału powinny być pobrane do czystych i jałowych pojemników (bez środków utrwalających i podłoża transportowego). Próbkę mogą być przechowywane w lodówce (2-4°C) przez 7 dni przed rozpoczęciem badania. W przypadku dłuższego przechowywania, próbki należy przechowywać zamrożone w temperaturze -20°C. W tym przypadku, próbka musi zostać całkowicie rozmrożona i doprowadzona do temperatury pokojowej przed badaniem.

9. PRZEPROWADZENIE TESTU

Pobieranie próbki kału (patrz rysunek 1):

- 1) Należy użyć oddzielnego pojemnika na każdą próbkę. Odkręcić nakrętkę probówki i wprowadzić przyrząd do pobierania próbki do pojemnika z kałem, poprzez trzykrotne wkładanie w próbkę kału.

Zamknąć probówkę z buforem i próbką. Probówkę z próbką można przechowywać do 5 dni.

- 2) Wstrząsnąć probówką w celu zapewnienia dokładnej dyspersji próbki. W przypadku płynnych próbek kału, należy pobrać je za pomocą pipety i nakropić około 10-20 µl do probówki zawierającej bufor.

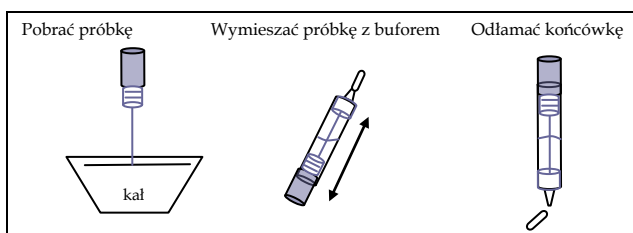
Procedura testowa (patrz rysunek 2)

Test, próbki kału oraz bufor pozostawić w temperaturze pokojowej (15-30°C) przed rozpoczęciem testu.

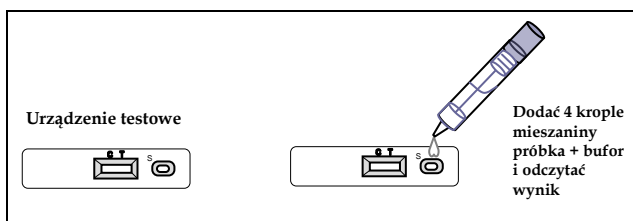
Nie otwierać foliowego opakowania do czasu przeprowadzenia testu.

- 1) Wyjąć test NADAL® Kalprotektyna z zamkniętego opakowania i użyć go jak najszybciej. Umieścić test na czystej i równej powierzchni. Używać oddzielnego testu dla każdej z próbek.
- 2) Wstrząsnąć probówkę w celu osiągnięcia lepszego rozprządzenia próbki. Odlamać końcówkę probówki.
- 3) Nakropić 4 krople do otworu testowego (S). Rozpocząć odliczanie czasu.
- 4) Odczytać wynik po 10 minutach od wymieszania próbki.

Rysunek 1:



Rysunek 2:



10. INTERPRETACJA WYNIKÓW

<p>POZYTYWNY</p>	<p>W polu wyników pojawiają się dwie linie: czerwona linia testowa (T) oraz zielona linia kontrolna (C). Wynik pozytywny na kalprotektynę może wskazywać na stan zapalny przewodu pokarmowego.</p>
<p>NEGATYWNY</p>	<p>W obszarze testowym pojawia się tylko jedna zielona linia kontrolna (C). Wynik negatywny wskazuje, że stan zapalny przewodu pokarmowego nie występuje.</p>
<p>NIEWAŻNY</p>	<p>Całkowity brak zielonej linii kontrolnej (C) niezależnie od wystąpienia czerwonej linii testowej (T). Uwaga: Niewystarczająca ilość próbki, niewłaściwie przeprowadzona procedura testowa lub pogorszenie się odczynników są najczęstszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej (C). W takim przypadku zaleca się analizę przeprowadzonych czynności i powtórzenie procedury testowej z wykorzystaniem nowej kasety. Jeśli problem będzie się powtarzał, należy zaprzestać używania testu i skontaktować się z dystrybutorem.</p>

UWAGI DO INTERPRETACJI WYNIKÓW:

Intensywność linii czerwonej w polu testowym (T) zależy od stężenia kalprotektyny w próbce.

11. KONTROLA JAKOŚCI

Procedura kontrolna zawarta jest w teście:

- Zielona linia kontrolna pojawia się w polu kontrolnym (C). Potwierdza dodanie wystarczającej ilości próbki i prawidłowość przeprowadzonej procedury testowej.
- Czystość tła obszaru testowego stanowi wewnętrzną kontrolę negatywną testu. Jeśli test działa prawidłowo, tło w obszarze testowym powinno być czyste i nie powinno utrudniać odczytania wyniku testu.

12. OGRANICZENIA

- 1) Test **NADAL® Kalprotektyna** określa obecność kalprotektyny w próbkach (ocena jakościowa) i powinien być używany do wykrywania kalprotektyny tylko w próbkach kału. Test nie określa ilości ani tempa wzrostu koncentracji kalprotektyny.
- 2) Nadmiar użytej próbki może powodować błędne wyniki testu (brązowe linie). W takim przypadku należy powtórzyć test rozcieńczając odpowiednią ilość próbki buforem.
- 3) Niektóre próbki kału mogą powodować spadek intensywności zabarwienia linii kontrolnej.
- 4) W przypadku pacjentów z aktywnym zespołem jelita drażliwego o charakterze neutrofilowym, takim jak choroba Crohna i wrzodziejące zapalenie jelit, wynik testu **NADAL® Kalprotektyna** może być pozytywny, podczas obecności kalprotektyny w kale. Test **NADAL® Kalprotektyna** może być użyty do wykrywania przewlekłej biegunki u pacjentów.
- 5) Wynik pozytywny testu potwierdza występowanie kalprotektyny w próbkach kału, co może być związane z występowaniem zapalenia jelit, rakiem jelita grubego i niektórych enteropatii. Pozytywne wyniki testu powinny być porównane z dodatkowymi badaniami diagnostycznymi, przeprowadzonymi przez lekarza w celu ustalenia dokładnej przyczyny zapalenia.
- 6) U noworodków odnotowano wyższe niż u dzieci wartości kalprotektyny w kale na poziomie średnio 167 µg/g kału.

13. OCZEKIWANE WYNIKI

Wyższy poziom kalprotektyny w stolcu związany jest ze zwiększonym ryzykiem nawrotu choroby u pacjentów z zespołem jelita drażliwego. Niektóre badania zakładają, że wartości równe lub wyższe 50 µg hFPC/g kału, umożliwiają wykrycie u dorosłych pacjentów problemów ze stanami zapalnymi przewodu pokarmowego.

14. CHARAKTERYSTYKA TESTU

Czułość

Próbka zawierająca kalprotektynę o koncentracji równej lub wyższej od 50 µg/g kału, daje pozytywne wyniki przy użyciu testu **NADAL® Kalprotektyna**.

Zgodnie z instrukcją załączoną do zestawu wykrywania dla określenia granicy wykrywalności testu, badano różne rozcieńczenia kalprotektyny bezpośrednio w buforze ekstrakcyjnym lub przy ujemnej próbce kału.

Wykrywalność ludzkiej kalprotektyny przez test **NADAL® Kalprotektyna** wskazuje na poziom czułości >94% w porównaniu do innego immunologicznego testu komercyjnego (Calprest® Eurospital).

Swoistość

Wykrywalność ludzkiej kalprotektyny za pomocą testu **NADAL® Kalprotektyna**, wskazuje na 93% korelacji swoistości w porównaniu do innego komercyjnego testu immunologicznego (Calprest® Eurospital).

Test **NADAL® Kalprotektyna** jest specyficzny dla ludzkiej kalprotektyny i nie wykazuje przy tym reakcji krzyżowych z innymi kalprotektynami.

15. BIBLIOGRAFIA

1. VIEIRA, A. et al., "Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes", BMC Research Notes 2009, 2:221.
2. HANAI, H. et al. "Relationship Between Fecal Calprotectin, Intestinal Inflammation, and Peripheral Blood Neutrophils in Patients with Active Ulcerative Colitis" Digestive Diseases and Sciences, Sept. 2004, Vol 49, No 9, pp 1438-1443.
3. BONNIN TOMAS, A. et al. "Calprotectina fecal como marcador diferencia entre patología gastrointestinal orgánica y funcional". Rev. Esp. de Enf. Dig. 2007, Vol 99, No 12, pp. 689-693.

Oznaczenia



Patrz: ulotka informacyjna



Znak zgodności CE



Tylko do użytku in-vitro



Numer katalogowy



Numer serii



Temperatura przechowywania



Data ważności



Wystarczające na "n" powtórzeń



nal von minden GmbH
Carl-Peschken-Str. 9
47441 Moers

Rev: 24/10/2012 DR; 24/10/2012 MW

NADAL® Syphilis Test (test strip)

REF 203901N-40



de	Gebrauchsanweisung	2	pt	Instruções de Utilização	26
en	Instructions for use	6	cs	Návod k použití	30
fr	Instructions d'utilisation	10		Symbols	35
es	Instrucciones de uso	14		Our Teams	36
it	Istruzioni per l'uso	18			
pl	Sposób użycia	22			



1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® Syphilis Test ist ein chromatographischer Immunoassay im Lateral-Flow Format zum qualitativen Nachweis von anti-*Treponema pallidum* (*T. pallidum*)-IgM und -IgG in humanen Vollblut-, Serum- oder Plasmaproben. Der Test ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von Syphilis bei Patienten mit Verdacht auf eine Syphilis-Infektion bestimmt (siehe Punkt 12. „Grenzen des Tests“). Die Testdurchführung ist nicht automatisiert und erfordert keine spezielle Schulung oder Qualifikation. Der NADAL® Syphilis Test ist nur für den professionellen Gebrauch ausgelegt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Treponema pallidum (*T. pallidum*) ist ein spiralförmiges Bakterium mit einer äußeren Zellmembran und einer Zytoplasmamembran. Es ist der Erreger der Geschlechtskrankheit Syphilis. Auch wenn die Syphilis-Raten nach einer Epidemie zwischen 1986 und 1990 in den USA zurückgegangen sind, ist das Vorkommen von Syphilis seit 1992 in Europa, vor allem in den Ländern der Russischen Föderation, gestiegen, wo der Höchststand von 263 Fällen pro 100.000 berichtet wurde. Darüber hinaus ist in letzter Zeit die Positiv-Rate der serologischen Testergebnisse für Syphilis bei mit HIV-infizierten Patienten gestiegen.

Der serologische Nachweis von spezifischen Antikörpern gegen *T. pallidum* wurde seit langem für die Diagnose von Syphilis anerkannt, weil der natürliche Verlauf einer Infektion durch Phasen ohne klinische Erscheinungsform gekennzeichnet ist.

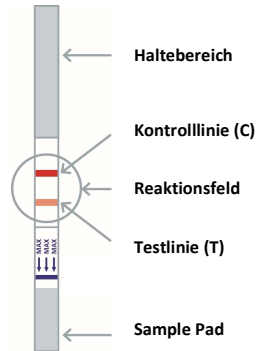
Die Antikörper-Reaktion auf *T. pallidum* kann innerhalb von 4 bis 7 Tagen nach dem Auftreten eines Schankers nachgewiesen werden, was einen frühen Nachweis und eine frühe Diagnose einer Syphilis-Infektion ermöglicht.

Verschiedene Antigene, wie Cardiolipin (RPR-Test), VDRL-Antigen und *T. pallidum*-Extrakten, die aus *in-vitro* Kulturen oder Hoden geimpfter Kaninchen gewonnen werden, werden in serologischen Syphilis-Tests verwendet. Jedoch sind RPR- und VDRL-Antigene nicht *Treponema*-spezifisch und ganze Extrakte von *T. pallidum* sind nicht reproduzierbar und enthalten eine gewisse Menge an kontaminierten Materialien, wie z.B. Geißeln, welche zu einer unspezifischen Reaktion bei Tests mit Testserum führen können.

3. Testprinzip

Der NADAL® Syphilis Test ermöglicht den Nachweis von anti-*T. pallidum* IgM und IgG durch visuelle Interpretation der Farbentwicklung auf dem Teststreifen. Spezifische rekombinante *T. pallidum*-Antigene sind im Testlinienbereich (T) der Membran immobilisiert. Während der Testung reagiert die Probe mit den *T. pallidum*-Antigenen, die mit farbigen Partikeln konjugiert und auf dem Konjugat-Pad des Teststreifens vorbeschichtet sind. Das Gemisch wandert dann durch Kapillarkraft die Membran entlang und interagiert mit den Reagenzien auf der Membran. Wenn in der Probe genügend anti-*T. pallidum*-Antikörper vorhanden sind, erscheint eine farbige Linie im Testlinienbereich (T) der Membran. Das Vorhandensein dieser farbigen Linie deutet auf ein positives Ergebnis hin, während ihre Abwesenheit auf ein negatives Ergebnis hinweist.

Das Erscheinen einer farbigen Linie im Kontrolllinienbereich (C) dient als Verfahrenskontrolle und weist darauf hin, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.



4. Bestandteile der Testpackung

- 40 NADAL® Syphilis Teststreifen, inkl. Einwegpipetten (40 µL)
- 2 Pufferfläschchen „Buffer“ (je 4 mL)*
- 1 Gebrauchsanweisung

*Enthält folgendes Konservierungsmittel: ProClin™ 300: <0,03%.

Gemäß Verordnung (EC) Nr. 1272/2008 CLP ist für ProClin™ 300 keine Gefahrenkennzeichnung erforderlich. Die Konzentrationen sind unterhalb der Freigrenze von <0,03%.

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Probensammelbehälter (geeignet für das zu testende Probenmaterial)
- Zentrifuge (nur für Serum- oder Plasmaproben)
- Alkoholpads
- Lanzetten (nur für Vollblutproben aus Fingerpunktion)
- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Die Test-Kits sollten bei 2-30°C bis zum angegebenen Verfallsdatum gelagert werden. Die Teststreifen sind bis zum auf dem Folienbeutel angegebenen Verfallsdatum stabil. Der Teststreifen muss bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie die Test-Kits nicht ein. Verwenden Sie die Tests nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum. Es ist darauf zu achten, dass die Bestandteile des Test-Kits vor Kontamination geschützt sind. Verwenden Sie die Bestandteile des Test-Kits nicht, wenn es Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination oder einer Ausfällung gibt. Biologische Kontaminationen von Dosiervorrichtungen, Behältern oder Reagenzien können zu falschen Ergebnissen führen.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.

- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Keine Bestandteile des Test-Kits verwenden, wenn die Primärverpackung beschädigt ist.
- Tests sind nur zum einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Geben Sie Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld).
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontamination zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigener Probensammelbehälter verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- Verwenden Sie den Puffer nicht, wenn er Verfärbungen oder Trübungen aufweist. Verfärbungen oder Trübungen können ein Anzeichen für eine mikrobielle Kontamination sein.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Test-Kits gearbeitet wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Gesundheitszustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Der NADAL® Syphilis Test kann mit Vollblut (aus Venen- oder Fingerpunktion), Serum oder Plasma durchgeführt werden.

Vollblutprobenentnahme aus Fingerpunktion

- Waschen Sie die Hand des Patienten mit Seife und warmem Wasser oder säubern Sie sie mit einem Alkoholpad. Lassen Sie sie trocknen.
- Massieren Sie die Hand ohne dabei die Einstichstelle zu berühren, indem Sie die Hand abwärts in Richtung der Kuppe des Mittel- oder Ringfingers reiben.
- Stechen Sie die Haut mit einer sterilen Lanzette. Wischen Sie den ersten Blutropfen ab.
- Reiben Sie vorsichtig die Hand vom Handgelenk zur Handfläche und zum Finger, damit sich auf dem Einstichpunkt ein runder Tropfen bildet.

Vollblutproben aus Fingerpunktion sollten unverzüglich getestet werden.

Vollblutproben aus Venenpunktion

Für die Aufbereitung von venösem Vollblut oder Plasmaproben sollten Probensammelbehälter mit Anti-

kogulanzen, wie EDTA, Natriumcitrat oder Natriumheparin verwendet werden.

Die Testung sollte unmittelbar nach der Probenentnahme durchgeführt werden. Bewahren Sie Proben nicht über einen längeren Zeitraum bei Raumtemperatur auf.

Venöses Vollblut sollte bei 2-8°C aufbewahrt werden, wenn der Test innerhalb von 2 Tagen nach Probenentnahme durchgeführt wird.

Frieren Sie Vollblutproben nicht ein.

Serum- und Plasmaproben

Trennen Sie Serum oder Plasma so schnell wie möglich vom Blut, um eine Hämolyse zu vermeiden. Verwenden Sie nur klare, nicht hämolytierte Proben.

Die Testung sollte unmittelbar nach der Probenentnahme durchgeführt werden. Bewahren Sie Proben nicht über einen längeren Zeitraum bei Raumtemperatur auf. Serum- oder Plasmaproben können bei 2-8°C bis zu 3 Tage gelagert werden. Für eine längere Lagerung sollten die Proben bei -20°C gelagert werden.

Bringen Sie Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur. Eingefrorene Proben sollten vor Testdurchführung vollständig aufgetaut und gut gemischt werden. Proben sollten nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden.

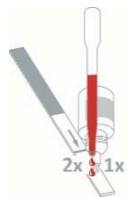
Wenn Proben versendet werden sollen, sollten diese unter Einhaltung von geltenden Vorschriften für den Transport ätiologischer Krankheitserreger verpackt werden.

Ikterische, lipämische, hämolytische, viskose, wärmebehandelte oder kontaminierte Proben können zu falschen Testergebnissen führen.

9. Testdurchführung

Bringen Sie alle Tests, Proben, Puffer und/oder Kontrollen vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).

1. Entnehmen Sie den Teststreifen dem Folienbeutel und verwenden Sie diesen so schnell wie möglich. Für optimale Ergebnisse sollte der Test unverzüglich nach der Öffnung des Folienbeutels durchgeführt werden. Kennzeichnen Sie den Teststreifen mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation.
2. Legen Sie den Teststreifen auf eine saubere und ebene Oberfläche.
3. **a) Für Serum-, Plasma- oder Vollblutproben aus Venenpunktion:**
 - Halten Sie die Pipette senkrecht und geben Sie 2 Tropfen (ca. 80 µL) der Probe auf das Sample Pad des Teststreifens.
 - Halten Sie das Pufferfläschchen senkrecht und geben Sie 1 Tropfen (ca. 40 µL) Puffer hinzu.



b) Für Vollblutproben aus Fingerpunktion mittels hängender Tropfen:

- Positionieren Sie den Finger des Patienten so, dass der Blutropfen genau über dem Sample Pad des Teststreifens ist.

- Lassen Sie 2 hängenden Tropfen Vollblut aus Fingerpunktion in die Mitte des Sample Pads des Teststreifens fallen.

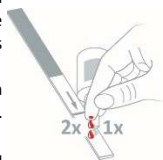
- Halten Sie das Pufferfläschchen senkrecht und geben Sie 1 Tropfen (ca. 40 µL) Puffer hinzu.

Vermeiden Sie es, den Finger zu quetschen, da dies zu fehlerhaften Testergebnissen führen könnte.

- Starten Sie den Timer.

Wenn der Test zu laufen beginnt, werden Sie beobachten wie eine farbige Flüssigkeit über die Membran wandert.

- Warten Sie darauf, dass die farbige(n) Linie(n) erscheint/en. Werten Sie das Testergebnis nach 10 Minuten aus. Nach mehr als 30 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



10. Testauswertung

Positiv

Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C), die andere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich (T).

Hinweis:

Die Farbintensität im Testlinienbereich (T) kann abhängig von der in der Probe vorhandenen Analytkonzentration variieren. Jede Farbtönung im Testlinienbereich (T) sollte als positives Ergebnis betrachtet werden. Beachten Sie, dass es sich bei diesem Test nur um einen qualitativen Test handelt und dass er die Analytkonzentration in der Probe nicht bestimmen kann.

Negativ

Es erscheint eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich (C). Im Testlinienbereich (T) erscheint keine farbige Linie.

Ungültig

Die Kontrolllinie (C) erscheint nicht. Ergebnisse von den Tests, die nach der festgelegten Auswertzeit keine Kontrolllinie gebildet haben, müssen verworfen werden.

Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einem neuen Teststreifen. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit Ihrem Distributor in Verbindung.

Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint.



11. Qualitätskontrolle

Der Teststreifen beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt

ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Die *Gute Laborpraxis (GLP)* empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Test-Kits.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Syphilis Test ist nur für den *in-vitro* diagnostischen Gebrauch ausgelegt. Der Test sollte nur für den qualitativen Nachweis von anti-*T. pallidum* IgM und IgG in humanen Vollblut-, Serum- oder Plasmaproben verwendet werden.
- Weder der quantitative Wert noch die Steigerungsrate/Senkungsrate der Konzentration von *T. pallidum*-Antikörpern kann mit diesem qualitativen Test bestimmt werden.
- Die Genauigkeit des Tests ist von der Qualität der Probe abhängig. Falsche Ergebnisse können von einer unsachgemäßen Probenahme oder Probenlagerung herrühren (siehe Punkt 8. „Probenahme, -vorbereitung und -lagerung“).
- Einige Proben mit ungewöhnlich hohen Titern von heterophilen Antikörpern oder Rheumafaktoren können die Testergebnisse beeinträchtigen.
- Wie bei allen diagnostischen Tests sollten alle Ergebnisse im Zusammenhang mit weiterer klinischer Information, die dem Arzt zur Verfügung steht, ausgewertet werden.
- Der NADAL® Syphilis Test zeigt nur das Vorhandensein von *T. pallidum*-Antikörpern in der Probe und sollte nicht als einziges Kriterium für die Diagnose einer *T. pallidum*-Infektion verwendet werden.
- Sollte das Testergebnis negativ ausfallen, klinische Symptome aber weiter anhalten, empfiehlt es sich, zusätzliche Testungen unter Verwendung anderer klinischer Methoden durchzuführen. Ein negatives Ergebnis schließt zu keinem Zeitpunkt eine mögliche *T. pallidum*-Infektion aus.

13. Leistungsmerkmale des Tests

Klinische Leistungsmerkmale

Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Der NADAL® Syphilis Test wurde mit klinischen Vollblutproben im Vergleich zu einem anderen kommerziell erhältlichen TPHA Syphilis Schnelltest evaluiert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

NADAL® Syphilis Test	Anderer TPHA Syphilis Schnelltest		
	Positiv	Negativ	Total
	411	8	419
	6	529	535
Total	417	537	954

Diagnostische Sensitivität: 98,6% (96,9% - 99,5%)*

Diagnostische Spezifität: 98,5% (97,1% - 99,4%)*

Gesamtübereinstimmung: 98,5% (97,6% - 99,2%)*

*95% Konfidenzintervall

Analytische Leistungsmerkmale

Analytische Spezifität

Kreuzreaktivitätsstudie

Negative Vollblutproben wurden mit den folgenden potentiell kreuzreagierenden Substanzen versetzt und mit dem NADAL® Syphilis Test getestet:

Substanz	Konzentration
HAMA	1000 ng/mL
HBsAb	Positiv
HbCAb	Positiv
anti- <i>H. pylori</i> IgG	Positiv
anti-Rubella-Virus IgM	Positiv
Rheumafaktoren	8400 IU/mL
anti-HBeAg IgM	Positiv
anti-HCV IgM	Positiv
anti-EBV Ab	Positiv
anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgM	Positiv
HBsAg	Positiv
HBeAb	Positiv
anti-HIV IgM	Positiv
anti-CMV IgM	Positiv

Bei der Testung mit dem NADAL® Syphilis Test wurde keine Kreuzreaktivität mit den Proben beobachtet.

Interferenzstudie

Negative Vollblutproben und schwach positive Serumproben wurden mit den folgenden potentiell interferierenden Substanzen mit den unten angegebenen Konzentrationen versetzt und zeigten keine Interferenz mit dem NADAL® Syphilis Test.

Substanz	Konzentration	Substanz	Konzentration
Acetaminophen	0,2 mg/mL	Coffein	0,2 mg/mL
Acetylsalicylsäure	0,2 mg/mL	Gentisinsäure	0,2 mg/mL
Ascorbinsäure	20 mg/mL	Albumin	20 mg/mL
Kreatin	2 mg/mL	Hämoglobin	0,011mg/mL
Bilirubin	10 mg/mL	Oxalsäure	6 mg/mL

Präzision

Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit wurde durch das Testen von 20 Replikaten von negativen, schwach, mittel und stark positiven Proben mit 3 unabhängigen Chargen der NADAL® Syphilis Tests bestimmt. >99% der Proben wurden richtig bestimmt (20/20 korrekte Testungen je Konzentration, 95%-Konfidenzintervall: 95,5-100%). Der NADAL® Syphilis Test zeigte eine akzeptable Wiederholbarkeit.

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit wurde durch das Testen von 5 Replikaten von negativen, schwach, mittel und stark positiven Proben bestimmt. Die Testungen wurden an 5 verschiedenen Tagen von 4 Anwendern mit 3 unabhängigen Chargen der NADAL® Syphilis Tests an 3 Standorten durchgeführt. >99%

der Proben wurden richtig bestimmt (100/100 korrekte Testungen je Konzentration, 95%-Konfidenzintervall: 99,3%-100%). Der NADAL® Syphilis Test zeigte eine akzeptable Reproduzierbarkeit.

14. Meldung schwerwiegender Vorkommnisse

Bei schwerwiegenden Vorkommnissen im Zusammenhang mit der Leistung des NADAL® Syphilis Tests informieren Sie bitte unverzüglich die nal von minden GmbH und die zuständige Behörde. Wenn möglich, den verwendeten Test und die entsprechenden Bestandteile des Test-Kits **nicht** entsorgen.

15. Referenzen

- Centers for Disease Control (CDC). Chlamydia trachomatis infections. Policy guidelines for prevention and control. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1985 Aug 23; 34 Suppl 3: 53S-74S.
- Tichonova L, Borisenko K, Ward H, Meheus A, Gromyko A, Renton A. Epidemics of syphilis in the Russian Federation: trends, origins, and priorities for control. Lancet. 1997 Jul 19; 350(9072): 210-3.
- Norgard MV, Chamberlain NR, Swancutt MA, Goldberg MS. Cloning and expression of the major 47-kilodalton surface immunogen of *Treponema pallidum* in *Escherichia coli*. Infect Immun. 1986 Nov; 54(2): 500-6.

Rev. 1, 2023-02-23 OM

1. Intended Use

The NADAL® Syphilis Test is a lateral flow chromatographic immunoassay for the qualitative detection of anti-*Treponema pallidum* (*T. pallidum*) IgM and IgG in human whole blood, serum or plasma specimens. The test is intended for use as an aid in the diagnosis of syphilis in patients suspected to have a syphilis infection (see section 12 'Limitations'). The test procedure is not automated and requires no special training or qualification. The NADAL® Syphilis Test is designed for professional use only.

2. Introduction and Clinical Significance

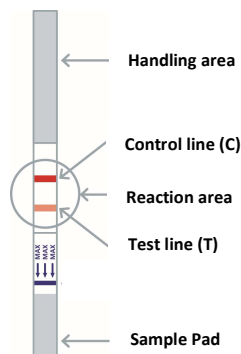
Treponema pallidum (*T. pallidum*), a spirochete bacterium with an outer cell membrane and a cytoplasmic membrane, is the causative agent of the venereal disease known as syphilis. Although syphilis rates are declining in the United States after an epidemic between 1986 and 1990, the incidence of syphilis in Europe has been increasing since 1992, especially in the states of the Russian Federation, where peaks of 263 cases per 100,000 have been reported. In addition, the positive rate of serological test results for syphilis in HIV-infected individuals has recently been on the rise.

The serological detection of specific antibodies to *T. pallidum* has been long recognised in the diagnosis of syphilis since the natural course of the infection is characterised by periods without clinical manifestations. The antibody response to *T. pallidum* can be detected within 4 to 7 days after the syphilis chancre appears, allowing the early detection and the diagnosis of a syphilis infection.

A variety of antigens, such as Cardiolipin (RPR test), VDRL antigen and *T. pallidum* extracts derived from *in-vitro* culture or inoculated rabbit testes, have been used in syphilis serological tests. However, RPR and VDRL antigens are not treponemal specific and whole *T. pallidum* extracts are not reproducible and contain a certain amount of contaminating materials such as flagella, which may lead to a non-specific reaction in assays of test serum.

3. Test Principle

The NADAL® Syphilis Test enables the detection of anti-*T. pallidum* IgM and IgG through the visual interpretation of colour development on the test strip. Specific recombinant *T. pallidum* antigens are immobilised in the test line region (T) of the membrane. During the test, the specimen reacts with the *T. pallidum* antigens which are conjugated to coloured particles and precoat onto the conjugate pad of the test strip. The mixture then migrates along the membrane by capillary action and interacts with the reagents on the membrane. If there are a sufficient number of anti-*T. pallidum* antibodies in the specimen, a coloured line will develop in the test line region (T) of the membrane. The presence of this coloured line indicates a positive result, while its absence indicates a negative result. The formation of a coloured line in the control line region (C) serves as a procedural control, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.



4. Reagents and Materials Supplied

- 40 NADAL® Syphilis test strips, incl. disposable pipettes (40 µL)
- 2 buffer bottles (4 mL each)*
- 1 package insert

*containing the following preservative: ProClin™ 300: <0.03%.

No hazard labelling for ProClin™ 300 is required according to Regulation (EC) № 1272/2008 CLP. Concentrations are below the exemption threshold of <0.03%.

5. Additional Materials Required

- Specimen collection containers (suitable for specimen material to be tested)
- Centrifuge (for serum or plasma specimens only)
- Alcohol pads
- Lancets (for fingerstick whole blood specimens only)
- Timer

6. Storage and Stability

Test kits should be stored at 2-30°C until the indicated expiry date. Test strips are stable until the expiry date printed on the foil pouches. Test strips must remain in the sealed foil pouches until use. Do not freeze test kits. Do not use tests beyond the expiry date indicated on the packaging. Care should be taken to protect test kit components from contamination. Do not use test kit components if there is evidence of microbial contamination or precipitation. Biological contamination of dispensing equipment, containers or reagents can lead to inaccurate results.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the entire instructions for use prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the packaging.
- Do not use test kit components if the primary packaging is damaged.
- Tests are for single use only.
- Do not add specimens to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).

- Avoid cross-contamination of specimens by using a new specimen collection container for each specimen obtained.
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not use the buffer if it is discoloured or turbid. Discolouration or turbidity may be a sign of microbial contamination.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Temperature can adversely affect test results.
- Used testing materials should be disposed of in accordance with local regulations.

8. Specimen Collection and Preparation

The NADAL® Syphilis Test can be performed using whole blood (from venipuncture or fingerstick), serum or plasma.

To collect fingerstick whole blood specimens:

- Wash the patient's hand with soap and warm water or clean it with an alcohol pad. Allow it to dry.
- Massage the hand, without touching the puncture site, by rubbing along the hand towards the fingertip of the middle or ring finger.
- Puncture the skin with a sterile lancet. Wipe away the first drop of blood.
- Gently rub the hand from the wrist to the palm, and then to the finger to form a rounded drop of blood over the puncture site.

Fingerstick whole blood should be tested immediately.

Venipuncture whole blood specimens

Containers containing anticoagulants, such as EDTA, sodium citrate or sodium heparin should be used for the preparation of venous whole blood or plasma specimens.

Testing should be performed immediately after specimen collection. Do not leave specimens at room temperature for prolonged periods of time.

If the test is to be run within 2 days of specimen collection, whole blood collected by venipuncture should be stored at 2-8°C.

Do not freeze whole blood specimens.

Serum and plasma specimens

Separate serum or plasma from blood as soon as possible to avoid haemolysis. Use only clear, non-haemolysed specimens.

Testing should be performed immediately after specimen collection. Do not leave specimens at room temperature for prolonged periods of time. Serum and plasma specimens can be stored at 2-8°C for up to 3 days. For long-term storage, specimens should be kept at -20°C.

Bring specimens to room temperature prior to testing. Frozen specimens should be completely thawed and mixed well prior to testing. Specimens should not be frozen and thawed repeatedly.

If specimens are to be shipped, they should be packed in compliance with all applicable regulations for the transportation of etiologic agents.

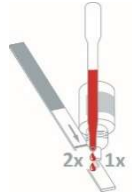
Icteric, lipemic, haemolysed, viscous, heat-treated and contaminated specimens may lead to inaccurate test results.

9. Test Procedure

Bring tests, specimens, buffer and/or controls to room temperature (15-30°C) prior to testing.

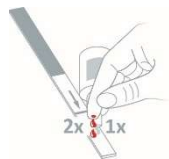
1. Remove the test strip from the foil pouch and use it as soon as possible. The best results will be obtained if the test is performed immediately after opening the foil pouch. Label the test strip with the patient or control identification.
2. Place the test strip on a clean and level surface.
3. **a) For serum, plasma or venous whole blood specimens**

- Holding a pipette vertically, transfer 2 drops (approximately 80 µL) of the specimen to the sample pad of the test strip.
- Holding the buffer bottle vertically, transfer 1 drop (approximately 40 µL) of buffer to the sample pad.



b) For fingerstick whole blood specimens using hanging drops:

- Position the patient's finger so that a drop of blood is exactly above the sample pad of the test strip.
- Allow 2 hanging drops of fingerstick whole blood to fall into the centre of the sample pad of the test strip.
- Holding the buffer bottle vertically, transfer 1 drop (approximately 40 µL) of buffer to the sample pad. **Avoid squeezing the finger, as this might lead to inaccurate test results.**



4. Start the timer.

As the test begins to run, you will observe a coloured liquid migrate along the membrane.

5. Wait for the coloured line(s) to appear. Read the test result after 10 minutes. Do not interpret the result after more than 30 minutes.



10. Result Interpretation

Positive:

A coloured line develops in the control line region (C) and another coloured line develops in the test line region (T).



Note: The colour intensity in the test line region (T) may vary depending on the analyte concentration present in the specimen. Any shade of colour in the test line region (T) should be considered positive. Note that this is a qualitative test only and it cannot determine the analyte concentration in the specimen.

Negative:

A coloured line develops in the control line region (C). No line develops in the test line region (T).



Invalid:

The control line (C) fails to appear. Results from any test which has not produced a control line at the specified reading time must be discarded.



Please review the procedure and repeat the test with a new test strip. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your distributor.

Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for control line failure.

11. Quality Control

The internal procedural control is included in the test strip:

A coloured line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, correct procedural technique and adequate membrane wicking.

Good laboratory practice (GLP) recommends the use of external control materials to ensure proper test kit performance.

12. Limitations

- The NADAL® Syphilis Test is for professional *in-vitro* diagnostic use only. The test should be used for the qualitative detection of anti-*T. pallidum* IgM and IgG in human whole blood, serum or plasma specimens only.
- Neither the quantitative value nor the rate of increase/decrease in the concentration of *T. pallidum* antibodies can be determined using this qualitative test.
- The accuracy of the test depends on the quality of the specimen. Inaccurate test results may occur due to improper specimen collection or storage (see section 8 'Specimen Collection and Preparation').
- Some specimens containing unusually high titers of heterophile antibodies or rheumatoid factor may affect test results.
- As with all diagnostic tests, all results should be interpreted by a physician in conjunction with other available clinical information.

- The NADAL® Syphilis Test only detects the presence of *T. pallidum* antibodies in specimens and should not be used as the sole criterion for a diagnosis of *T. pallidum* infection.
- If the test result is negative but clinical symptoms persist, additional testing using other clinical methods is recommended. A negative result does not at any time preclude the possibility of a *T. pallidum* infection.

13. Performance Characteristics

Clinical performance

Diagnostic sensitivity and specificity

The NADAL® Syphilis Test was evaluated using clinical whole blood specimens in comparison to another commercially available TPHA Syphilis rapid test.

The results are presented in the following table:

NADAL® Syphilis Test	Another TPHA Syphilis rapid test			
		Positive	Negative	Total
	Positive	411	8	419
	Negative	6	529	535
	Total	417	537	954

Diagnostic sensitivity: 98.6% (96.9% - 99.5%)*

Diagnostic specificity: 98.5% (97.1% - 99.4%)*

Overall agreement: 98.5% (97.6% - 99.2%)*

*95% confidence interval

Analytical performance

Analytical specificity

Cross-reactivity study

Negative whole blood specimens were spiked with the following, potentially cross-reacting substances and tested using the NADAL® Syphilis Test:

Substance	Concentration
HAMA	1000 ng/mL
HBsAb	Positive
HbCAb	Positive
anti- <i>H. pylori</i> IgG	Positive
anti-rubella virus IgM	Positive
rheumatoid factors (RF)	8400 IU/mL
anti-HBeAg IgM	Positive
anti-HCV IgM	Positive
anti-EBV Ab	Positive
anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgM	Positive
HBsAg	Positive
HBeAb	Positive
anti-HIV IgM	Positive
anti-CMV IgM	Positive

No cross-reactivity with the specimens was observed when tested using the NADAL® Syphilis Test.

Interference study

Negative whole blood and low positive serum specimens spiked with the following potentially interfering substances at the concentrations listed below showed no interference with the NADAL® Syphilis Test.

Substance	Concentration	Substance	Concentration
Acetaminophen	0.2 mg/mL	Caffeine	0.2 mg/mL
Acetylsalicylic acid	0.2 mg/mL	Gentisic acid	0.2 mg/mL
Ascorbic acid	20 mg/mL	Albumin	20 mg/mL
Creatine	2 mg/mL	Haemoglobin	0.011mg/mL
Bilirubin	10 mg/mL	Oxalic acid	6 mg/mL

Precision

Repeatability

Repeatability was established by testing 20 replicates of negative, low, medium and high positive specimens using 3 lots of the NADAL® Syphilis tests. >99% of the specimens were correctly identified (20/20 correct tests per concentration, 95% confidence interval: 95.5-100%). The NADAL® Syphilis Test demonstrated acceptable repeatability.

Reproducibility

Reproducibility was established by testing 5 replicates of negative, low, medium and high positive specimens. Testing was performed by 4 operators using 3 independent NADAL® Syphilis test lots at 3 sites on 5 separate days. >99% of the specimens were correctly identified (100/100 correct tests per concentration, 95% confidence interval: 99.3%-100%). The NADAL® Syphilis Test demonstrated acceptable reproducibility.

14. Serious incident reporting

In the case of any serious incidents related to the performance of the NADAL® Syphilis Test, please inform nal von minden GmbH and the competent authority immediately. If still possible, do **not** dispose of the used test and the corresponding test kit components.

15. References

- Centers for Disease Control (CDC). Chlamydia trachomatis infections. Policy guidelines for prevention and control. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1985 Aug 23; 34 Suppl 3: 535-745.
- Tichonova L, Borisenko K, Ward H, Meheus A, Gromyko A, Renton A. Epidemics of syphilis in the Russian Federation: trends, origins, and priorities for control. Lancet. 1997 Jul 19; 350(9072): 210-3.
- Norgard MV, Chamberlain NR, Swancutt MA, Goldberg MS. Cloning and expression of the major 47-kilodalton surface immunogen of Treponema pallidum in Escherichia coli. Infect Immun. 1986 Nov; 54(2): 500-6.

Rev. 1, 2023-02-23 OM

1. Domaine d'application

Le test NADAL® Syphilis est un immunodosage chromatographique à flux latéral pour la détection qualitative des IgM et IgG anti-*Treponema pallidum* (*T. pallidum*) dans des échantillons de sang total, de sérum ou de plasma humains. Le test est une aide au diagnostic de la syphilis chez les patients suspectés d'être infectés par la syphilis (cf. Chapitre 12 « Limites du test »). Le test n'est pas automatisé et ne nécessite aucune formation ou qualification particulière. Le test NADAL® Syphilis est réservé à un usage professionnel.

2. Introduction et signification clinique

Treponema pallidum (*T. pallidum*) est une bactérie spiralee avec une membrane cellulaire externe et une membrane cytoplasmique. C'est l'agent pathogène de la syphilis, une maladie sexuellement transmissible. Bien que les taux de syphilis aient diminué après une épidémie entre 1986 et 1990 aux États-Unis, la prévalence de la syphilis a augmenté depuis 1992 en Europe, notamment dans les pays de la Fédération de Russie, où un pic de 263 cas pour 100.000 a été rapporté. En outre, le taux de positivité des résultats des tests sérologiques pour la syphilis chez les patients infectés par le VIH a récemment augmenté.

La détection sérologique d'anticorps spécifiques contre *T. pallidum* a été reconnue depuis longtemps pour le diagnostic de la syphilis, car l'évolution naturelle d'une infection est caractérisée par des phases sans manifestation clinique. La réponse des anticorps à *T. pallidum* peut être détectée dans les 4 à 7 jours suivant l'apparition d'un chancre, ce qui permet une détection et un diagnostic précoces de l'infection par la syphilis.

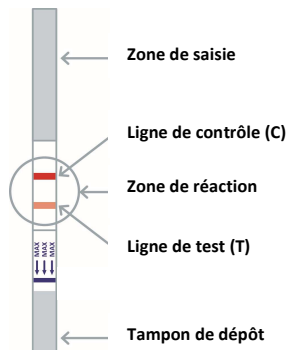
Différents antigènes, tels que la cardiolipine (test RPR), l'antigène VDRL et les extraits de *T. pallidum*, obtenus à partir de cultures *in-vitro* ou de testicules de lapins inoculés, sont utilisés dans les tests sérologiques de la syphilis. Cependant, les antigènes RPR et VDRL ne sont pas spécifiques à *Treponema* et les extraits entiers de *T. pallidum* ne sont pas reproductibles et contiennent une certaine quantité de matériaux contaminés, comme des flagelles, qui peuvent entraîner une réaction non spécifique lors des tests avec le sérum d'essai.

3. Principe du test

Le test NADAL® Syphilis permet de détecter les IgM et IgG anti-*T. pallidum* par interprétation visuelle de l'évolution de la couleur sur la bandelette de test. Des antigènes recombinants spécifiques *T. pallidum* sont immobilisés sur la zone de test (T) de la membrane. Pendant le test, l'échantillon réagit avec les antigènes *T. pallidum* qui sont conjugués à des particules colorées et immobilisés sur le tampon de conjugué de la bandelette de test. Le mélange migre ensuite par capillarité le long de la membrane et interagit avec les réactifs de la membrane. Si l'échantillon contient suffisamment d'anticorps anti-*T. pallidum*, une ligne colorée apparaît dans la zone de test (T) de la membrane. La présence de cette ligne colorée indique un résultat positif, tandis que son absence indique un résultat négatif.

L'apparition d'une ligne colorée dans la zone de contrôle (C) sert de procédure de contrôle et indique qu'un volume

suffisant d'échantillon a été ajouté et que la membrane a été suffisamment imbibée.



4. Réactifs et matériels fournis

- 40 bandelettes de test NADAL® Syphilis, avec pipettes à usage unique (40 µL)
- 2 flacons de solution tampon « Buffer » (4 mL chacun)*
- 1 notice d'utilisation

* contient le conservateur suivant : ProClin™ 300 : <0,03 %.

Selon le règlement européen n°1272/2008, le CLP, aucun étiquetage de danger n'est requis pour le ProClin™ 300, les concentrations étant inférieures au seuil fixé de < 0,03 %.

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Récipient collecteur (adapté à l'échantillon à tester)
- Centrifugeuse (pour les échantillons de sérum ou de plasma uniquement)
- Tampons imprégnés d'alcool
- Lancettes (pour les prélèvements de sang total par ponction du doigt uniquement)
- Chronomètre

6. Recueil et conservation des réactifs

Les kits doivent être conservés entre 2° et 30°C jusqu'à la date de péremption indiquée. Les bandelettes sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage d'origine. La bandelette de test doit rester dans son emballage d'origine jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler les tests. Ne pas utiliser les tests après expiration de la date de péremption figurant sur l'emballage. Protéger les composants du kit de toute contamination. Ne pas utiliser les composants du kit de test s'ils présentent des signes de contamination microbienne ou de précipitation. La contamination biologique des doseurs, récipients et réactifs peut entraîner des résultats erronés.

7. Avertissements et précautions

- Test réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Lire la notice d'utilisation attentivement avant de réaliser le test.
- Ne pas utiliser le test après expiration de la date de péremption figurant sur l'emballage.
- Ne pas utiliser les composants des tests si l'emballage primaire est endommagé.
- Tests à usage unique.

- Ne pas déposer d'échantillon sur la zone réactive (fenêtre de lecture des résultats).
- Ne pas toucher la zone réactive (fenêtre de lecture des résultats) afin d'éviter toute contamination.
- Pour éviter toute contamination croisée, un collecteur d'échantillons dédié doit être utilisé pour chaque échantillon.
- Ne pas interchanger ou mélanger les composants de différents kits.
- Ne pas utiliser le tampon s'il présente une décoloration ou une turbidité. Une décoloration ou une turbidité peut être un signe de contamination microbienne.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de manipulation des échantillons et des kits.
- Lors de la manipulation des échantillons, porter des vêtements de protection : blouse, gants à usage unique et lunettes de protection.
- Manipuler tous les échantillons comme de potentiels composants infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les manipulations ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.
- Ce test contient des produits d'origine animale. La certification concernant l'origine et/ou l'état sanitaire des animaux ne garantit pas l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Tous les produits utilisés pour ce test doivent être considérés comme des matières potentiellement infectieuses et sont à manipuler en appliquant les mesures de protection nécessaires (par ex. éviter d'avaler ou d'inhalier).
- La température peut influencer les résultats du test.
- Le matériel utilisé pour la réalisation des tests doit être éliminé selon les directives locales en vigueur.

8. Recueil, préparation et conservation des échantillons

Le test NADAL® Syphilis s'effectue sur des échantillons de sang total (par ponction veineuse ou du doigt), de sérum ou de plasma.

Échantillons de sang total par ponction du doigt

- Laver la main du patient au savon et à l'eau tiède ou la désinfecter avec un tampon imprégné d'alcool. La laisser sécher.
- Masser la main sans toucher le point de ponction en frottant la main vers le haut du majeur ou de l'annulaire.
- Piquer la peau avec une lancette stérile. Essuyer la première goutte de sang.
- Frotter doucement la main du poignet vers la paume jusqu'au doigt, de sorte qu'une goutte de sang se forme sur le point de ponction.

Les échantillons de sang total par ponction du doigt doivent être analysés immédiatement.

Échantillons de sang total par ponction veineuse

Afin de prélever des échantillons de sang total ou de plasma par ponction veineuse, il faut utiliser des récipients collecteurs contenant des anticoagulants, tels que EDTA, citrate de sodium ou héparine de sodium.

Réaliser le test immédiatement après le prélèvement. Ne pas conserver les échantillons à température ambiante pendant une période prolongée.

Si le test est effectué dans les 2 jours suivant le prélèvement, le sang total prélevé par ponction veineuse doit être conservé entre 2 et 8°C.

Ne pas congeler les échantillons de sang total.

Échantillons de sérum et de plasma

Séparer le sérum ou le plasma du sang dès que possible pour éviter l'hémolyse. Utiliser exclusivement des échantillons purs et non hémolysés.

Réaliser le test immédiatement après le prélèvement. Ne pas conserver les échantillons à température ambiante pendant une période prolongée. Les échantillons de sérum et de plasma peuvent être conservés jusqu'à 3 jours entre 2 et 8°C. Pour une conservation plus longue, les prélèvements doivent être conservés à une température de -20°C.

Avant de commencer le test, amener les échantillons à température ambiante. Les échantillons congelés doivent être complètement décongelés et bien mélangés avant la réalisation du test. Ne pas répéter les cycles de congélation-décongélation.

Si des échantillons doivent être expédiés, veiller à les emballer conformément aux réglementations en vigueur concernant le transport des agents pathogènes étiologiques.

Des échantillons ictériques, lipémiques, hémolytiques, visqueux, traités thermiquement ou contaminés peuvent fausser les résultats du test.

9. Procédure du test

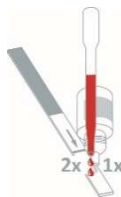
Amener tous les tests, échantillons, tampons et/ou contrôles à température ambiante (entre 15 et 30°C) avant la réalisation du test.

1. Retirer la bandelette de test de son emballage et réaliser le test rapidement. Pour des résultats optimaux, le test doit être exécuté immédiatement après l'ouverture de l'emballage. Identifier la bandelette de test avec le numéro d'identification du patient ou du contrôle.

2. Placer la bandelette de test sur une surface propre et plane.

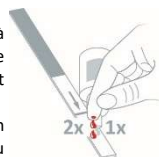
3. a) Pour les échantillons de sérum, plasma ou sang total par ponction veineuse :

- Tenir la pipette à la verticale et déposer 2 gouttes (env. 80 µL) de l'échantillon sur le tampon de dépôt de la bandelette de test.
- Tenir le flacon de solution tampon à la verticale et ajouter 1 goutte de tampon (env. 40 µL) sur le tampon de dépôt.



b) Pour les échantillons de sang total prélevés par ponction du doigt au moyen de gouttes en suspens :

- Positionner le doigt du patient de manière à ce que la goutte de sang se trouve exactement au-dessus du tampon de dépôt de la bandelette de test.
- Laisser tomber 2 gouttes de sang total en suspens prélevé par ponction du doigt au



centre du tampon de dépôt de la bandelette de test.

- Tenir le flacon de solution tampon à la verticale et ajouter 1 goutte de tampon (env. 40 µL) sur le tampon de dépôt. **Éviter de presser le doigt, car cela pourrait entraîner des résultats de test erronés.**

4. Démarrer le chronomètre.

Lorsque le test démarre, vous verrez un liquide coloré se déplacer sur la membrane.

- 5. Attendre que la/les ligne(s) colorée(s) apparaisse(nt). Interprétez le résultat du test après 10 minutes. Ne plus interpréter le résultat du test après 30 minutes.



10. Interprétation des résultats

Positif

Une ligne de couleur apparaît dans la zone de contrôle (C) et une autre ligne de couleur apparaît dans la zone de test (T).



Remarque :

L'intensité de la couleur de la ligne de test (T) peut varier en fonction de la concentration des analytes présents dans l'échantillon. Toute apparition de couleur dans la zone de test (T) doit être considérée comme un résultat positif. Notez que ce test est uniquement un test qualitatif et qu'il ne peut déterminer la concentration en analytes dans l'échantillon.

Négatif

Une ligne colorée apparaît dans la zone de contrôle (C). Aucune ligne colorée n'apparaît dans la zone de test (T).



Non valide

La ligne de contrôle (C) n'apparaît pas. Les tests sur lesquels aucune ligne de contrôle n'est apparue dans le temps d'évaluation impartis doivent être jetés.

Contrôler la procédure d'exécution du test et renouveler le test avec une nouvelle bandelette de test. Si le problème persiste, cesser d'utiliser le kit de test et contacter votre distributeur.



Un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou des tests périmés sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle.

11. Contrôle qualité

La bandelette de test contient un contrôle de procédure interne :

Une ligne colorée apparaissant dans la zone de contrôle (C) est considérée comme un contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume de prélèvement est suffisant, que la manipulation a été effectuée correctement et que la membrane a été suffisamment imbibée.

Les *Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL)* recommandent l'utilisation de matériel de contrôle externe afin de vérifier la performance du kit de test.

12. Limites du test

- Le test NADAL® Syphilis est réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel. Le test ne doit être utilisé que pour la détection qualitative des IgM et IgG anti-*T. pallidum* dans des échantillons de sang total, de sérum ou de plasma humains.
- Ce test qualitatif ne permet ni de déterminer la valeur quantitative ni le taux d'augmentation/diminution de la concentration des anticorps *T. pallidum*.
- La précision du test dépend de la qualité de l'échantillon. Des résultats erronés peuvent résulter d'un prélèvement ou d'un stockage inapproprié de l'échantillon (cf. Chapitre 8 « Recueil, préparation et conservation des échantillons »).
- Certains échantillons présentant des titres anormalement élevés d'anticorps hétérophiles ou de facteurs rhumatoïdes peuvent interférer avec les résultats du test.
- Comme pour tous les tests de diagnostic, tous les résultats doivent être évalués en lien avec les autres informations cliniques à la disposition du médecin.
- Le test NADAL® Syphilis indique exclusivement la présence d'anticorps *T. pallidum* dans l'échantillon et ne peut être employé comme seul critère de diagnostic d'une infection par *T. pallidum*.
- Si les résultats du test sont négatifs mais que les symptômes cliniques persistent, il est recommandé de réitérer le test avec d'autres méthodes cliniques de diagnostic. Un résultat négatif n'exclut à aucun moment la possibilité d'une infection par *T. pallidum*.

13. Performance du test

Performance clinique

Sensibilité et spécificité diagnostiques

Le test NADAL® Syphilis a été évalué avec des échantillons cliniques de sang total en comparaison avec un autre test rapide TPHA Syphilis disponible dans le commerce.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Test NADAL® Syphilis	Autre test rapide TPHA Syphilis		
	Positif	Négatif	Total
	411	8	419
	6	529	535
Total	417	537	954

Sensibilité diagnostique : 98,6% (96,9% - 99,5%)*

Spécificité diagnostique : 98,5% (97,1% - 99,4%)*

Concordance totale : 98,5% (97,6% - 99,2%)*

*95 % intervalle de confiance

Performances analytiques

Spécificité analytique

Étude de réaction croisée

Des échantillons de sang total négatifs ont été mélangés avec les substances à réaction croisée potentielle suivantes et testés avec le test NADAL® Syphilis :

Substance	Concentration
HAMA	1000 ng/mL
HBsAb	Positif
HBcAb	Positif
IgG anti- <i>H. pylori</i>	Positif

Substance	Concentration
IgM anti-Rubella	Positif
Facteurs rhumatoïdes	8400 IU/mL
IgM anti-HBeAg	Positif
IgM anti-HCV	Positif
anti-EBV Ab	Positif
IgM anti-Toxoplasma gondii	Positif
HBsAg	Positif
HBeAb	Positif
IgM anti-VIH	Positif
IgM anti-CMV	Positif

Aucune réactivité croisée avec les échantillons n'a été observée lors des tests effectués avec le test NADAL® Syphilis.

Étude d'interférence

Des échantillons de sang total négatifs et des échantillons de sérum faiblement positifs ont été mélangés avec les substances potentiellement interférentes suivantes, aux concentrations indiquées ci-dessous, et n'ont montré aucune interférence avec le test NADAL® Syphilis.

Substance	Concentration	Substance	Concentration
Acétaminophène	0,2 mg/mL	Caféine	0,2 mg/mL
Acide acétylsalicylique	0,2 mg/mL	Acide gentisique	0,2 mg/mL
Acide ascorbique	20 mg/mL	Albumine	20 mg/mL
Créatine	2 mg/mL	Hémoglobine	0,011 mg/mL
Bilirubine	10 mg/mL	Acide oxalique	6 mg/mL

Précision

Répétabilité

La répétabilité a été déterminée en testant 20 reproductions d'échantillons négatifs, faiblement, moyennement et fortement positifs avec 3 lots de tests NADAL® Syphilis indépendants. Plus de 99 % des échantillons ont été correctement déterminés (20/20 tests corrects par concentration, intervalle de confiance de 95 %: 95,5-100 %). Le test NADAL® Syphilis a indiqué une répétabilité admissible.

Reproductibilité

La reproductibilité a été déterminée en testant 5 reproductions d'échantillons négatifs, faiblement et fortement positifs. Les tests ont été réalisés sur 5 jours distincts, par 4 opérateurs, avec 3 lots de tests NADAL® Syphilis indépendants, sur 3 sites différents. Plus de 99 % des échantillons ont été correctement déterminés (100/100 tests corrects par concentration, intervalle de confiance de 95 %: 99,3 % à 100 %). Le test NADAL® Syphilis a indiqué une reproductibilité admissible.

14. Déclaration d'incidents graves

En cas d'incidents graves liés à la performance du test NADAL® Syphilis, veuillez en informer immédiatement nal von minden GmbH et les autorités compétentes. Si possible, ne **pas** jeter le test utilisé et les composants correspondants du kit de test.

15. Bibliographie

- Centers for Disease Control (CDC). Chlamydia trachomatis infections. Policy guidelines for prevention and control. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1985 Aug 23; 34 Suppl 3: 535-745.
- Tichonova L, Borisenko K, Ward H, Meheus A, Gromyko A, Renton A. Epidemics of syphilis in the Russian Federation: trends, origins, and priorities for control. Lancet. 1997 Jul 19; 350(9072): 210-3.
- Norgard MV, Chamberlain NR, Swancutt MA, Goldberg MS. Cloning and expression of the major 47-kilodalton surface immunogen of Treponema pallidum in Escherichia coli. Infect Immun. 1986 Nov; 54(2): 500-6.

Rev. 1, 2023-02-23 EB

1. Uso previsto

El test NADAL® Syphilis es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de IgM e IgG anti-*Treponema pallidum* (*T. pallidum*) en muestras de sangre completa, suero o plasma humanos. El test está diseñado para ayudar en el diagnóstico de sífilis en pacientes con sospecha de esta infección (consulte el apartado 12 "Limitaciones"). El procedimiento de test no está automatizado y no requiere una especial formación o cualificación. El test NADAL® Syphilis ha sido diseñado solo para uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

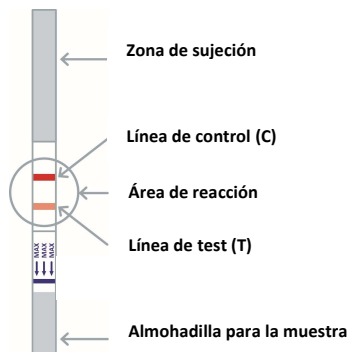
El *Treponema pallidum* (*T. pallidum*), una bacteria espiroqueta con una membrana celular exterior y una membrana citoplasmática, es el agente causante de la enfermedad venérea de la sífilis. Aunque el índice de casos de sífilis ha disminuido en Estados Unidos después de una epidemia entre 1986 y 1990, en Europa la incidencia de la sífilis ha aumentado desde 1992, especialmente en los estados de la Federación Rusa, donde se han registrado picos de 263 casos por 100.000 habitantes. Además, la tasa positiva de resultados de test serológicos de sífilis en individuos infectados por VIH ha estado aumentando recientemente.

La detección serológica de anticuerpos específicos contra *T. pallidum* ha sido aceptada desde hace tiempo en el diagnóstico de la sífilis, ya que el curso natural de la infección se caracteriza por periodos sin manifestaciones clínicas. Los anticuerpos que responden al *T. pallidum* se pueden detectar de 4 a 7 días después de la aparición de los chancros, permitiendo la detección temprana y el diagnóstico de una infección por sífilis.

Se han utilizado una variedad de antígenos, como la cardioliipina (prueba RPR), antígeno VDRL y *T. pallidum* derivados de cultivos *in-vitro* o test de conejos inoculados, en pruebas serológicas de sífilis. Sin embargo, los antígenos de RPR y VDRL no son treponemas específicos y los extractos completos de *T. pallidum* no son reproducibles y contienen una cierta cantidad de materiales contaminantes como flagelos, que pueden provocar una reacción no específica en pruebas de suero.

3. Principio del test

El test NADAL® Syphilis permite la detección de IgM e IgG anti-*T. pallidum* a través de la interpretación visual del desarrollo del color en la tira de test. Los antígenos específicos recombinantes de *T. pallidum* se inmovilizan en la región de la línea de test de la membrana. Durante el test, la muestra reacciona con los antígenos de *T. pallidum* que se encuentran conjugados con partículas coloreadas y recubriendo el hisopo de muestra de la tira de test. A continuación, la mezcla migra por capilaridad a lo largo de la membrana e interactúa con los reactivos. Si hay un número suficiente de anticuerpos anti-*T. pallidum* en la muestra, se desarrollará una línea coloreada en la región de la línea de test (T) de la membrana. La presencia de esta línea coloreada indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. La aparición de una línea coloreada en la región de control (C) sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido adecuado y que la membrana se ha empapado suficientemente.



4. Reactivos y materiales provistos

- 40 tiras de test NADAL® Syphilis con pipetas desechables incluidas (40 µL).
- 2 botes de búfer „Buffer“ (4 mL cada uno)*
- 1 manual de instrucciones

*contiene el siguiente conservante: ProClin™ 300: <0,03%. No se requiere etiquetado de peligro para ProClin™ 300 de acuerdo con el Reglamento (CE) Nº 1272/2008 CLP. Las concentraciones están por debajo del umbral de exención de <0,03%.

5. Materiales adicionales

- Recipientes de recolección de muestras (apropiados para el material de la muestra que se va a analizar)
- Centrifugadora (solo para muestras de suero o plasma)
- Almohadillas con alcohol
- Lancetas (solo para muestras de sangre completa obtenida por punción digital)
- Cronómetro

6. Almacenamiento y estabilidad

Almacene los kits de test a 2-30°C hasta su fecha de caducidad. Las tiras de test se mantienen estables hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. Las tiras de test deben permanecer en los envases de aluminio hasta su uso. No congele los kits de test. No utilice los test después de la fecha de caducidad indicada en el envase. Proteja los componentes del kit de test de cualquier contaminación. No utilice los componentes del kit si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitación. La contaminación biológica del dispositivo suministrado, recipientes o reactivos puede producir resultados incorrectos.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todas las instrucciones de uso antes de realizar el test.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No utilice los componentes del kit de test si el envase original está dañado.
- Los test son de un solo uso.
- No añada muestras en el área de reacción (región de resultados).

- Evite tocar el área de reacción (área de resultados), a fin de evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente recolector para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits.
- No utilice el búfer si está descolorido o turbio. La decoloración o la turbidez pueden ser un signo de contaminación microbiana.
- No coma, beba o fume en la zona donde se manipulen las muestras y los kits de test.
- Utilice ropa protectora como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos y las directrices estándar para la correcta eliminación de las muestras.
- El kit de test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por ello, se recomienda tratar estos productos como potencialmente infecciosos y seguir las medidas de seguridad habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- La temperatura puede afectar negativamente a los resultados del test.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

8. Recolección de muestras y preparación

El test NADAL® Syphilis se puede realizar utilizando sangre completa (obtenida por punción venosa o digital), suero o plasma.

Para recolectar muestras de sangre completa obtenidas por punción digital:

- Lave la mano del paciente con jabón y agua templada o límpiela con una almohadilla con alcohol. Déjela secar.
- Realice un masaje en la mano sin tocar el lugar de la punción, frotándola en dirección a la punta del dedo medio o anular.
- Pinche la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera gota de sangre.
- Frote suavemente desde la muñeca hasta la palma de la mano, y después continúe hasta el dedo para producir una gota redonda de sangre en la zona de la punción.

Si la sangre completa se ha obtenido por punción digital se debe realizar el test inmediatamente.

Muestras de sangre completa obtenida por punción venosa

Deben utilizarse recipientes que contienen anticoagulantes, como EDTA, citrato de sodio o heparina de sodio para la preparación de muestras de sangre completa venosa o plasma.

El test se debe realizar inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos de tiempo prolongados.

Si el test se va a realizar en los 2 días posteriores a la recolección de las muestras, almacene a 2-8°C la sangre completa obtenida por punción venosa.

No congele las muestras de sangre completa.

Muestras de suero y plasma

Separe el suero o plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Use solo muestras claras no hemolizadas.

El test se debe realizar inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos de tiempo prolongados. Las muestras de suero y plasma se pueden almacenar a 2-8°C hasta un máximo de 3 días. Si desea almacenarlas durante más tiempo, debe mantenerlas a -20°C.

Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar el test. Las muestras congeladas deben ser completamente descongeladas y bien mezcladas antes de realizar el test. Evite los ciclos repetidos de congelado y descongelado de muestras.

Si las muestras se van a transportar, se deben empaquetar de acuerdo con las regulaciones aplicables para el transporte de agentes etiológicos.

Las muestras ictericas, lipémicas, hemolizadas, viscosas, tratadas térmicamente y contaminadas pueden dar lugar a resultados de test inexactos.

9. Procedimiento del test

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

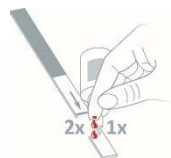
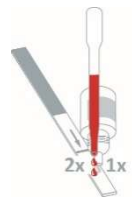
1. Retire la tira de test de su envase de aluminio y utilícela lo antes posible. Los mejores resultados se obtendrán si el test se realiza inmediatamente después de abrir el envase. Etiquete la tira de test con la identificación del paciente o de control.
2. Coloque la tira de test sobre una superficie limpia y plana.
3. a) Para muestras de suero, plasma o sangre completa venosa

- Sosteniendo una pipeta verticalmente, transfiera 2 gotas (aproximadamente 80 µL) de la muestra a la almohadilla para la muestra de la tira de test.
- Sosteniendo el bote de búfer verticalmente añada 1 gota (aproximadamente 40 µL) del búfer a la almohadilla para la muestra.

Evite la formación de burbujas de aire en el pocillo de muestras (S) y no añada ninguna solución en la región de resultados.

b) Para muestras de sangre completa por punción digital con gotas colgantes:

- Coloque el dedo del paciente de forma que la gota de sangre caiga exactamente sobre la almohadilla para la muestra de la tira de test
- Deje caer 2 gotas de sangre completa de la punta del dedo en el centro del pocillo de la almohadilla para la muestra de la tira de test.



- Sosteniendo el bote de búfer verticalmente añada 1 gota (aproximadamente 40 µL) del búfer a la almohadilla para la muestra. **Evite apretar el dedo, ya que esto podría generar resultados de test inexactos.**

4. Active el cronómetro.

Una vez que el test empiece a funcionar, observará un líquido coloreado que migra a lo largo de la membrana.

- 5. Espere a que aparezca(n) la(s) línea(s) coloreada(s). Lea los resultados del test a los 10 minutos. No interprete los resultados después de más de 30 minutos.



10. Interpretación del resultado

Positivo:

Aparece una línea coloreada en la región de control (C) y una línea coloreada en la región de test (T).



Nota: la intensidad del color en la región de la línea de test (T) puede variar en función de la concentración del analito presente en la muestra. Por eso, cualquier sombra coloreada en la región de test (T) se debe considerar positiva. Recuerde que este test solo es cualitativo y no puede determinar la concentración del analito presente en las muestras.

Negativo:

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



No válido:

No aparece la línea de control (C). Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y se deben descartar.



Si esto sucede, revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva tira de test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.

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

11. Control de calidad

La tira de test contiene un control interno del procedimiento:

La línea coloreada que aparece en la región de la línea de control (C) se considera un control interno del procedimiento. Confirma un volumen de muestra adecuado, una técnica de procedimiento correcta y que la membrana se ha empapado suficientemente.

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

12. Limitaciones

- Solo apto para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*. El test debe utilizarse para la detección cualitativa de IgM e IgG anti-*T. pallidum* solo en muestras de sangre completa, suero o plasma humanos.
- Este test cualitativo no puede determinar ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento/disminución de la concentración de anticuerpos contra *T. pallidum*.
- La precisión del test depende de la calidad de la muestra. Es posible que se produzcan resultados de test inexactos debido a la recolección o el almacenamiento inadecuados de las muestras (consulte el apartado 8, "Recolección y preparación de las muestras").
- Las muestras que contienen cantidades inusualmente altas de anticuerpos heterófilos o de factor reumatoide, pueden afectar a los resultados esperados.
- Como ocurre con todos los test de diagnóstico, todos los resultados deben ser interpretados por un médico junto con otra información clínica disponible.
- El test NADAL® Syphilis solo detecta la presencia de anticuerpos contra *T. pallidum* en las muestras y no debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico de una infección por *T. pallidum*.
- Si el test muestra un resultado negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por *T. pallidum*.

13. Características del rendimiento

Rendimiento clínico

Sensibilidad y especificidad de diagnóstico

Se evaluó el test NADAL® Syphilis utilizando muestras clínicas de sangre completa en comparación con otro test rápido de TPHA para sífilis disponible en el mercado.

Los resultados se presentan en la siguiente tabla:

		Otro test rápido de TPHA para sífilis		
Test NADAL® Syphilis		Positivo	Negativo	Total
	Positivo	411	8	419
	Negativo	6	529	535
	Total	417	537	954

Sensibilidad de diagnóstico: 98,6% (96,9% - 99,5%)*

Especificidad de diagnóstico: 98,5% (97,1% - 99,4%)*

Acuerdo general: 98,5% (97,6% - 99,2%)*

*95% de intervalo de confianza

Rendimiento analítico

Especificidad analítica

Estudio de reactividad cruzada

A las muestras de sangre completa negativas se les añadieron las siguientes sustancias que pueden tener reacciones cruzadas y se analizaron con el test NADAL® Syphilis:

Sustancia	Concentración
HAMA	1000 ng/mL
HBsAb	Positivo
HBCAb	Positivo
IgG anti- <i>H. pylori</i>	Positivo



Sustancia	Concentración
IgM anti-virus de rubeola	Positivo
Factores reumatoides (FR)	8400 UI/mL
IgM anti-HBeAg	Positivo
IgM anti-VHC	Positivo
Ab anti-EBV	Positivo
IgM anti-Toxoplasma gondii	Positivo
HBsAg	Positivo
HBeAb	Positivo
IgM anti-VIH	Positivo
IgM anti-CMV	Positivo

No se observaron reacciones cruzadas con las muestras cuando se analizaron con el test NADAL® Syphilis.

Estudio de interferencia

Las muestras negativas de sangre completa y débilmente positivas de suero a las que se les añadieron las siguientes sustancias potencialmente interferentes en las concentraciones que se indican a continuación no mostraron interferencias con el test NADAL® Syphilis.

Sustancia	Concentración	Sustancia	Concentración
Paracetamol	0,2 mg/mL	Cafeína	0,2 mg/mL
Ácido acetilsalicílico	0,2 mg/mL	Ácido gentísico	0,2 mg/mL
Ácido ascórbico	20 mg/mL	Albúmina	20 mg/mL
Creatina	2 mg/mL	Hemoglobina	0,011 mg/mL
Bilirrubina	10 mg/mL	Ácido oxálico	6 mg/mL

Precisión

Repetibilidad

Se estableció la repetibilidad analizando 20 réplicas de muestras negativas así como débilmente, medianamente y fuertemente positivas utilizando un lote de test NADAL® Syphilis. Se identificaron correctamente >99% de las muestras (20/20 test correctos por concentración, intervalo de confianza del 95%: 95,5-100%). El test NADAL® Syphilis demostró una repetibilidad aceptable.

Reproducibilidad

La reproducibilidad se estableció analizando 5 réplicas de muestras negativas, débilmente positivas, medianamente positivas y débilmente positivas. Los test fueron realizados en 4 días diferentes por 3 operadores usando 3 lotes independientes de test NADAL® Syphilis en 3 lugares diferentes en 5 días distintos. Se identificaron correctamente >99% de las muestras (100/100 test correctos por concentración, intervalo de confianza del 95%: 99,3%-100%). El test NADAL® Syphilis demostró una repetibilidad aceptable.

14. Informe de incidente grave

En caso de cualquier incidente grave relacionado con el rendimiento del test NADAL® Syphilis, informe inmediatamente a nal von minden GmbH y a la autoridad competente. Si todavía es posible, **no** elimine el test usado y los componentes del kit de test correspondientes.

15. Referencias

- Centers for Disease Control (CDC). Chlamydia trachomatis infections. Policy guidelines for prevention and control. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1985 Aug 23; 34 Suppl 3: 535-745.
- Tichonova L, Borisenko K, Ward H, Meheus A, Gromyko A, Renton A. Epidemics of syphilis in the Russian Federation: trends, origins, and priorities for control. Lancet. 1997 Jul 19; 350(9072): 210-3.
- Norgard MV, Chamberlain NR, Swancutt MA, Goldberg MS. Cloning and expression of the major 47-kilodalton surface immunogen of Treponema pallidum in Escherichia coli. Infect Immun. 1986 Nov; 54(2): 500-6.

Rev. 1, 2023-02-23 MP

1. Uso previsto

Il test NADAL® Syphilis è un immunodosaggio cromatografico a flusso laterale per l'individuazione qualitativa di IgM ed IgG anti-*Treponema pallidum* (*T. pallidum*) in campioni di sangue intero, siero oppure plasma umani. Il test è concepito come supporto nella diagnosi di sifilide in pazienti sospetti di aver contratto un'infezione da sifilide (consultare la sezione 12 "Limiti del Test"). La procedura di test non è automatizzata e non richiede una formazione o una qualifica speciali. Il Test NADAL® Syphilis è concepito solo per uso professionale.

2. Introduzione e Significato Clinico

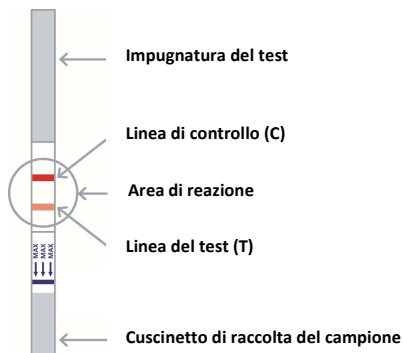
Il *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) è l'agente eziologico della sifilide. Il *T. pallidum* è un batterio della famiglia delle Spirochaetaceae con una parete cellulare esterna ed una membrana citoplasmatica. È l'agente responsabile della malattia venerea conosciuta come sifilide. Anche se i casi di sifilide stanno diminuendo negli Stati Uniti dopo l'epidemia degli anni 1986 e 1990, l'incidenza di sifilide in Europa è invece in aumento dal 1992 soprattutto negli stati della Federazione Russa dove sono stati raggiunti picchi di 263 casi per 100,000 abitanti. Inoltre, il tasso di positività dei test sierologici per la sifilide nei soggetti con infezione da HIV è recentemente aumentato.

La ricerca sierologica di anticorpi specifici contro il *T. pallidum* è da tempo riconosciuta nella diagnosi di sifilide, poiché il decorso naturale dell'infezione è caratterizzato da periodi senza manifestazioni cliniche. La risposta anticorpale al *T. pallidum* può essere rilevata entro 4-7 giorni dalla comparsa della cancrena sifilitica, consentendo l'individuazione precoce e la diagnosi di un'infezione da sifilide.

Una varietà di antigeni, quali Cardiolipina (test RPR), antigeni VDRL ed estratti di *T. pallidum* derivati da colture *in-vitro* o testicoli inoculati di coniglio, sono stati utilizzati nei test sierologici per la sifilide. In ogni caso, gli antigeni RPR e VDL non sono specifici del *teponema* e gli estratti di *T. pallidum* non sono riproducibili. Essi contengono un certo ammontare di organismi contaminanti quali i flagelli che potrebbero portare a reazioni non-specifiche nell'analisi di siero.

3. Principio del Test

Il test NADAL® Syphilis consente di rilevare IgM e IgG anti-*T. pallidum* attraverso l'interpretazione visiva dello sviluppo del colore sulla striscia del test. Gli antigeni specifici ricombinanti di *T. pallidum* sono immobilizzati nella regione della linea del test (T) della membrana. Durante il test, il campione reagisce con gli antigeni del *T. pallidum* che sono coniugati a particelle colorate e pre-rivestiti sul tampone coniugato del test a striscia. La miscela migra quindi lungo la membrana per azione capillare e interagisce con i reagenti presenti sulla membrana. Se nel campione è presente un numero sufficiente di anticorpi anti-*T. pallidum*, nella regione della linea del test (T) della membrana si svilupperà una linea colorata. La presenza di questa linea colorata indica un risultato positivo, mentre la sua assenza indica un risultato negativo. La formazione di una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) serve come controllo procedurale, indicando che è stato aggiunto il giusto volume di campione e che la migrazione lungo la membrana è avvenuta correttamente.



4. Reagenti e Materiali Forniti

- 40 test a striscia NADAL® Syphilis, pipette monouso incluse (40 µL)
- 2 flaconi di soluzione tampone "Buffer" (4 mL ciascuno)*
- 1 istruzioni per l'uso

*contenente i seguenti conservanti: ProClin™ 300: <0,03%.

Non è richiesta un'etichettatura per materiali pericolosi secondo il regolamento (CE) n. 1272/2008 CLP. Le concentrazioni sono inferiori alla soglia di esenzione di <0,03%.

5. Altri materiali richiesti

- Contenitore di raccolta del campione (appropriato per il materiale campione da testare)
- Centrifuga (solo per i campioni di siero oppure plasma)
- Dischetti imbevuti di alcol
- Pungidito (solo per il prelievo di sangue intero mediante puntura del polpastrello)
- Timer

6. Conservazione e stabilità

I kit devono essere conservati a 2-30°C fino alla data di scadenza indicata. I test a striscia rimangono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. I test a striscia vanno conservati nella confezione fino al loro utilizzo. Non congelare i kit di test. Non utilizzare i test oltre la data di scadenza indicata sulla confezione. Si raccomanda di fare attenzione a proteggere i componenti del kit di test dalla contaminazione. Non utilizzare in caso di evidente contaminazione microbica o deterioramento. Contaminazione biologica di apparecchiature, contenitori o reagenti può portare all'ottenimento di falsi risultati.

7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di eseguire il test.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Non utilizzare componenti del kit di test se l'imballaggio primario è danneggiato.
- Test monouso.
- Non aggiungere i campioni nell'area di risultato (result area).

- Al fine di evitare la contaminazione non toccare l'area di risultato (result area).
- Evitare il rischio di contaminazione crociata utilizzando sempre un nuovo contenitore di raccolta del campione per ogni campione ottenuto.
- Non sostituire o mescolare i componenti provenienti da kit differenti.
- Non utilizzare la soluzione tampone "buffer" se questa dovesse risultare scolorita oppure torbida. Sbiadimento o torbidezza possono essere indicativi di contaminazione microbica.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le normali precauzioni contro rischi microbiologici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Il kit fornito contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o condizione sanitaria degli animali non esclude del tutto l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda, pertanto, che questi prodotti vengano trattati come potenzialmente infettivi ed utilizzati nel rispetto delle normali pratiche di sicurezza (ad esempio, non ingerire o inalare).
- La temperatura può influire negativamente sui risultati dei test.
- I materiali utilizzati nello svolgimento del test vanno smaltiti nel rispetto delle regolamentazioni locali.

8. Preparazione e Raccolta del Campione

Il test NADAL® Syphilis può essere eseguito su campioni di sangue intero (ottenuti tramite prelievo venoso o puntura del polpastrello), siero o plasma.

Prelievo dei campioni di sangue intero tramite puntura del polpastrello:

- Lavare la mano del paziente con sapone ed acqua calda o pulire con alcol la zona da incidere. Fare asciugare.
- Massaggiare la mano del paziente senza toccare la zona del prelievo sfregando la mano verso il basso in direzione del dito medio o dell'anulare.
- Incidere la punta del dito utilizzando un pungidito sterile. Asciugare la prima goccia di sangue.
- Sfregare leggermente la mano del paziente dal polso al palmo fino al dito inciso affinché si formi una nuova goccia di sangue.

I campioni raccolti tramite puntura del polpastrello andrebbero testati immediatamente.

Campioni di sangue intero, prelievo venoso

I contenitori con anticoagulanti, come EDTA, citrato di sodio o eparina di sodio dovrebbero essere utilizzati per la preparazione di campioni di sangue intero venoso o plasma.

Eseguire il test immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo.

Se il test viene eseguito entro 2 giorni dalla raccolta del campione, il sangue intero raccolto tramite prelievo venoso va conservato a 2-8°C.

Non congelare i campioni di sangue intero.

Campioni di siero e plasma

Separare siero e plasma immediatamente al fine di evitare emolisi. Utilizzare solo campioni chiari non emolizzati

Eseguire il test immediatamente dopo la raccolta del campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per lunghi periodi di tempo. Campioni di siero e plasma possono essere conservati tra 2-8°C per un massimo di 3 giorni. Per conservazioni prolungate, i campioni vanno conservati a -20°C.

Portare i campioni a temperatura ambiente prima di eseguire il test. I campioni congelati vanno fatti scongelare completamente e mescolati adeguatamente prima di eseguire il test. Evitare episodi ripetuti di congelamento e scongelamento dei campioni.

Nel caso in cui si intenda spedire i campioni, questi andrebbero imballati seguendo le regolamentazioni locali in materia di trasporto di agenti eziologici.

I campioni itterici, lipemici, emolizzati, viscosi, trattati termicamente e contaminati possono portare a risultati imprecisi del test.

9. Procedura del Test

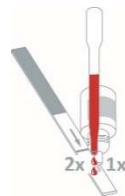
Portare i test, i campioni, soluzioni tampone "Buffer" e/o controlli a temperatura ambiente (15-30°) prima di eseguire il test.

1. Rimuovere il test a striscia dalla busta di alluminio e usarlo il prima possibile. Si otterranno i risultati migliori se il test viene eseguito immediatamente dopo l'apertura della confezione. Etichettare il test a striscia con l'identificativo del paziente o controllo.

2. Posizionare il test a striscia su una superficie piana e pulita.

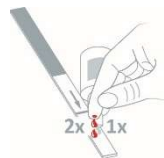
3. a) Siero, plasma oppure sangue intero

- Tenendo una pipetta in posizione verticale, trasferire 2 gocce (circa 80 µL) di campione sul cuscinetto di raccolta del campione del test a striscia.
- Tenendo il flacone di soluzione tampone "Buffer" in posizione verticale, aggiungere 1 goccia (circa 40 µL) di soluzione tampone "buffer" sul cuscinetto di raccolta del campione.



b) Campioni di sangue intero prelevato tramite puntura del polpastrello:

- Posizionare il dito del paziente al di sopra dell'area di raccolta del campione del test a striscia in modo che la goccia di sangue cada direttamente in corrispondenza del cuscinetto di raccolta del campione.
- Lasciare cadere 2 gocce di sangue intero dal dito al centro del cuscinetto di raccolta del campione del test a striscia.
- Tenendo il flacone di soluzione tampone "buffer" in verticale, trasferire 1 goccia



(circa 40 µL) di soluzione tampone "buffer" sul cuscinetto di raccolta del campione.

4. Avviare il timer.

Quando il test comincia a funzionare, potrete osservare un liquido colorato migrare lungo la membrana.

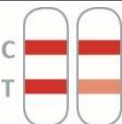
5. Attendere la comparsa delle linee colorate. Leggere il risultato del test entro 10 minuti. Non interpretare i risultati dopo più di 30 minuti.



10. Interpretazione dei risultati

Positivo:

Si sviluppa una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) e una linea colorata nella regione della linea del test (T).



Nota: L'intensità del colore della linea del test nella regione della linea del test (T) varia in base alla concentrazione degli analiti presenti nel campione. Pertanto, qualsiasi sfumatura di colore nell'area della linea del test (T) va considerata come indicativa di risultato positivo. Questo test qualitativo non è in grado di determinare la concentrazione dell'analita nel campione.

Negativo:

Si sviluppa una linea colorata nella regione della linea di controllo (C). Non si sviluppa nessuna linea nella regione della linea del test (T).



Non valido:

La linea di controllo (C) non compare. I risultati di qualsiasi test che non abbia prodotto alcuna linea di controllo entro i tempi di lettura indicati, non vanno presi in considerazione.

In tal caso si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a striscia. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.



Un volume insufficiente di campione, procedure operative scorrette o test scaduti sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo.

11. Controllo Qualità

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a striscia:

La linea colorata che compare in corrispondenza della regione della linea di controllo (C) è da considerarsi un controllo procedurale interno. Esso conferma che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione e che sono state applicate le corrette tecniche procedurali.

La *Buona Pratica di Laboratorio (GLP)* raccomanda l'impiego di metodi di controllo al fine di confermare la corretta performance del kit di test.

12. Limiti del Test

- Il test NADAL® Syphilis è un test per uso diagnostico professionale *in-vitro*. Il test deve essere utilizzato solo per la rilevazione qualitativa di IgM e IgG anti-*T. pallidum* in campioni di sangue intero, siero o plasma umano.
- Né il valore quantitativo né il tasso di aumento/decremento della concentrazione di anticorpi anti-*T. pallidum* possono essere determinati con questo test qualitativo.
- L'accuratezza del test dipende dalla qualità del campione. I risultati del test possono essere imprecisi a causa di una raccolta o conservazione impropria dei campioni (vedere la sezione 8 "Raccolta e preparazione dei campioni").
- Alcuni campioni contenenti valori insolitamente elevati di anticorpi eterofili o di fattore reumatoide possono influenzare i risultati del test.
- Come per tutti i test diagnostici, tutti i risultati devono essere interpretati da un medico insieme ad altre informazioni cliniche disponibili.
- Il test NADAL® Syphilis rileva solo la presenza di anticorpi *T. pallidum* nei campioni e non deve essere utilizzato come unico criterio per la diagnosi di infezione da *T. pallidum*.
- Se il risultato del test è negativo ma i sintomi clinici persistono, si raccomanda di effettuare ulteriori test utilizzando altri metodi clinici. Un risultato negativo non preclude mai la possibilità di un'infezione da *T. pallidum*.

13. Caratteristiche Tecniche

Performance clinica

Sensibilità e Specificità diagnostica:

Il test NADAL® Syphilis è stato valutato utilizzando campioni clinici di sangue intero rispetto a un altro test rapido per la sifilide TPHA disponibile in commercio.

I risultati sono riassunti nella seguente tabella:

		Altro test rapido TPHA Sifilide		
Test NADAL® Syphilis		Positivo	Negativo	Totale
	Positivo	411	8	419
	Negativo	6	529	535
	Totale	417	537	954

Sensibilità diagnostica: 98,6% (96,9% - 99,5%)*

Specificità diagnostica: 98,5% (97,1% - 99,4%)*

Andamento complessivo: 98,5% (97,6% - 99,2%)*

*95% Accuratezza

Prestazioni analitiche

Specificità analitica

Reattività crociata

I campioni di sangue intero negativi sono stati addizionati con le seguenti sostanze potenzialmente cross-reagenti e testati con il test NADAL® Syphilis:

Sostanza	Concentrazione
HAMA	1000 ng/mL
HBsAb	Positivo
HBAb	Positivo
IgG anti- <i>H. pylori</i>	Positivo
IgM anti-virus della rosolia	Positivo
Fattori Reumatoidi (RF)	8400 IU/mL
HBeAg IgM	Positivo



Sostanza	Concentrazione
HCV IgM	Positivo
anti-EBV Ab	Positivo
IgM anti-Toxoplasma gondii	Positivo
HBsAg	Positivo
HBeAb	Positivo
HIV IgM	Positivo
IgM anti-CMV	Positivo

Durante il test NADAL® Syphilis non è stata osservata alcuna reattività crociata con i campioni sopra elencati.

Studio di Interferenza

I campioni di sangue intero negativi e quelli di siero a bassa positività, addizionati con le seguenti sostanze potenzialmente interferenti, alle concentrazioni elencate di seguito, non hanno mostrato alcuna interferenza con il test NADAL® Syphilis.

Sostanza	Concentrazione	Sostanza	Concentrazione
Acetaminofene	0,2 mg/mL	Caffeina	0,2 mg/mL
Acido Acetilsalicilico	0,2 mg/mL	Acido Gentsico	0,2 mg/mL
Acido Ascorbico	20 mg/mL	Albumina	20 mg/mL
Creatina	2 mg/mL	Emoglobina	0,011 mg/mL
Bilirubina	10 mg/mL	Acido Ossalico	6 mg/mL

Precisione

Ripetibilità

La ripetibilità è stata stabilita analizzando 20 repliche di campioni negativi, a bassa, media e alta positività utilizzando 3 lotti del test NADAL® Syphilis. >99% dei campioni è stato identificato correttamente (20/20 test corretti per concentrazione, accuratezza del 95%: 95,5-100%). Il test NADAL® Syphilis ha dimostrato una ripetibilità accettabile.

Riproducibilità

La riproducibilità è stata stabilita testando repliche di campioni negativi a bassa e alta positività. I test sono stati eseguiti da 4 operatori utilizzando 3 lotti indipendenti di test NADAL® Syphilis in 3 siti diversi in 5 giorni separati. >99% dei campioni è stato identificato correttamente (20/20 test corretti per concentrazione, accuratezza del 95%: 95,5-100: 99,3%-100%). Il test NADAL® Syphilis ha dimostrato una riproducibilità accettabile.

14. Segnalazione di incidenti gravi

In caso di gravi incidenti legati all'esecuzione del test NADAL® Syphilis, si prega di informare immediatamente nal von minden GmbH e l'autorità competente. Se possibile, **non** smaltire il test utilizzato e i relativi componenti del kit di test.

15. Bibliografia

1. Centers for Disease Control (CDC). Chlamydia trachomatis infections. Policy guidelines for prevention and control. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1985 Aug 23; 34 Suppl 3: 535-745.

2. Tichonova L, Borisenko K, Ward H, Meheus A, Gromyko A, Renton A. Epidemics of syphilis in the Russian Federation: trends, origins, and priorities for control. Lancet. 1997 Jul 19; 350(9072): 210-3.

3. Norgard MV, Chamberlain NR, Swancutt MA, Goldberg MS. Cloning and expression of the major 47-kilodalton surface immunogen of Treponema pallidum in Escherichia coli. Infect Immun. 1986 Nov; 54(2): 500-6.

1. Zastosowanie

NADAL® Syphilis Test to chromatograficzny test immunologiczny w formie przepływu bocznego do jakościowego wykrywania przeciwciał IgM i IgG przeciwko *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) w próbkach ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osocza. Test ma służyć jako pomoc w diagnostyce kiły u pacjentów z podejrzeniem zakażenia kiłą (patrz punkt 12. „Ograniczenia testu”). Test nie jest zautomatyzowany i nie wymaga specjalnego szkolenia ani kwalifikacji. Test NADAL® Syphilis przeznaczony jest wyłącznie do użytku profesjonalnego.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Treponema pallidum (*T. pallidum*) jest spiralną bakterią z zewnętrzną błoną komórkową oraz błoną cytoplazmatyczną. Jest on czynnikiem chorobotwórczym kiły, choroby przenoszonej drogą płciową. Pomimo tego, że przypadki kiły po epidemii w latach pomiędzy 1986 i 1990 w USA, cofnęły się, pojawienie kiły od roku 1992 w Europie wzrosło, przede wszystkim w Federacji Rosyjskiej, gdzie największy poziom wyniósł 263 przypadki na 100.000 ludzi. Ponadto w ostatnim czasie, wzrósł poziom pozytywnych wyników kiły, u pacjentów zarażonych wirusem HIV.

Serologiczny dowód specyficznych przeciwciał przeciwko *T. pallidum*, został już dawno uznany jako diagnoza kiły, ponieważ naturalny przebieg infekcji oznaczony jest przez fazy lub kliniczne formy.

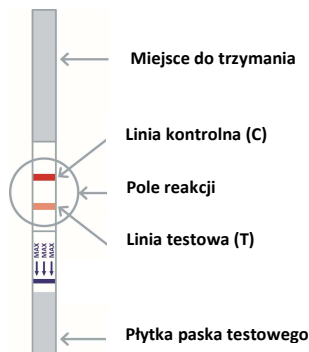
Reakcja przeciwciał na *T. pallidum* może zostać oznaczona w czasie od 4 do 7 dni po wystąpieniu szankieru, co umożliwia wczesne oznaczenie oraz wczesną diagnozę infekcji kiły.

Różne antygeny, jak Cardiolipin (RPR-Test), antygeny VDRL oraz ekstrakty *T. pallidum*, które zdobyte zostały z kultur *in-vitro* lub jąder zaszczepionych królików, używane zostają przy serologicznych testach kiły. Jednak antygeny RPR i VDRL nie są specyficzne dla krętków, a całe ekstrakty *T. pallidum* nie są odtwarzalne i zawierają pewną ilość skażonych materiałów, takich jak wici, które mogą prowadzić do niespecyficznej reakcji podczas badania z testowaną surowicą.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Syphilis umożliwia wykrycie anty-*T. pallidum* IgM i IgG przez wizualną interpretację rozwoju barwy na pasku testowym. Specyficzne rekombinowane antygeny *T. pallidum*, są unieruchomione w obszarze linii testowej membrany. Podczas badania próbka reaguje z antygenami *T. pallidum* skoniugowanymi z kolorowymi cząsteczkami i wstępnie pokrytymi podkładką z koniugatem paska testowego. Mieszanie wędruje przy pomocy sił kapilarnych wzdłuż membrany i zachodzi w interakcję z odczynnikami znajdującymi się na membranie. Jeśli w próbce znajduje się wystarczająca ilość przeciwciał anty-*T. pallidum*, kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej (T) membrany. Pojawienie się tej kolorowej linii wskazuje na wynik pozytywny, podczas gdy brak linii oznacza wynik negatywny.

Pojawienie się kolorowej linii w obszarze linii kontrolnej (C) służy jako kontrola procesowa i wskazuje na to, że dostarczona została wystarczająca ilość próbki, a membrana jest wystarczająco nasączona.



4. Materiały zawarte w zestawie

- 40 testów paskowych NADAL® Syphilis, wraz z jednorazowymi pipetami (40 µL)
- 2 buteleczki z buforem „Buffer” (po 4 mL każda)*
- 1 instrukcja obsługi

*zawiera następujący konserwant: ProClin™ 300: <0,03%. Zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008 CLP, nie jest wymagane oznakowanie zagrożenia dla ProClin™ 300. Stężenia są poniżej limitu zgłoszenia wynoszącego <0,03%.

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Pojemnik do pobierania próbek (odpowiedni do badanego materiału próbki)
- Centryfuga (tylko dla próbek surowicy i osocza)
- Waciki alkoholowe
- Nakłuwacze (tylko dla próbek z krwi pełnej z nakłucia palca)
- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Zestawy testowe powinny być przechowywane w temperaturze 2-30°C, do daty podanej na opakowaniu. Testy paskowe są stabilne do daty użyteczności podanej na opakowaniu foliowym. Test paskowy musi zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym aż do momentu jej użycia. Nie zamrażać zestawów testowych. Nie stosować kontroli pozytywnej po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu. Test i komponenty testu należy chronić przed kontaminacją. Testu nie należy używać przy oznakach mikrobiologicznej kontaminacji lub wytrąceniu. Biologiczne zanieczyszczenie urządzeń dozujących, zbiorników lub probówek, może prowadzić do błędnych wyników.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie należy używać żadnych części zestawu testowego, jeśli opakowanie jest uszkodzone.
- Testy są przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Nie dawać próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego (pola wyniku).

- W celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego należy używać każdorazowo nowej próbówki dla każdej próbki.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Nie używać bufora, jeśli pojawiła się zmiana koloru lub zmętnienie. Przebarwienia lub zmętnienie mogą być oznaką zanieczyszczenia mikrobiologicznego.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbkami lub zestawem testowym.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odczynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Test ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantuje braku przenoszonych patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności, np. unikać połknięcia lub wdychania.
- Temperatury mogą wpływać na wyniki testu.
- Zużyte materiały testowe powinny być zutylizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Test NADAL® Syphilis może być wykonany z krwi pełnej (z nakłucia żyły lub palca), surowicy lub osocza.

Pobieranie krwi pełnej z nakłucia palca.

- Umyć dłoń pacjenta przy pomocy mydła i ciepłej wody a następnie, przemyć wacikiem nasączonym alkoholem. Pozostawić do osuszenia.
- Masować dłoń, nie dotykając przy tym miejsca nakłucia, w taki sposób, aby pocierać dłoń w kierunku opuszka palca środkowego lub serdecznego.
- Nakłuć skórę przy pomocy sterylnego nakłuwacza. Wytrzeć pierwszą kroplę krwi.
- Pocierać ostrożnie dłoń od nadgarstka do powierzchni dłoni i do palca, tak aby w punkcie nakłucia wytworzyła się okrągła kropla.

Próbki krwi pełnej z palca powinny być przebadane natychmiast.

Próbki krwi pełnej z nakłucia żyły.

Do przygotowania próbek pełnej krwi żyłnej lub osocza należy używać pojemników do pobierania próbek zawierających antykoagulanty, takie jak EDTA, cytrynian sodu lub heparyna sodowa.

Przeprowadzenie testu powinno nastąpić bezpośrednio po pobraniu próbki. Nie przechowywać próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy czas.

Krew pełna z żyły powinna być przechowywana przy temperaturze 2-8°C, jeżeli test zostanie przeprowadzony w ciągu 2 dni po pobraniu próbki.

Nie należy zamrażać próbek z krwi pełnej.

Próbki surowicy i osocza.

Jak najszybciej rozdzielić surowicę lub osocze z krwi, w celu uniknięcia hemolizy. Używać wyłącznie przejrzystych i niehemolitycznych próbek.

Przeprowadzenie testu powinno nastąpić bezpośrednio po pobraniu próbki. Nie przechowywać próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy czas. Próbki surowicy lub osocza mogą być przechowywane przy temperaturze 2-8°C do 3 dni. W celu dłuższego przechowywania próbki powinny być przechowywane w temperaturze poniżej -20°C.

Przed przeprowadzeniem testu, należy doprowadzić próbki do temperatury pokojowej. Zamrożone próbki powinny zostać całkowicie rozmrożone i dobrze wymieszane, przed rozpoczęciem testu. Próbki nie mogą być ponownie zamrażane i rozmrażane.

Jeśli próbki mają zostać wysłane, to powinny być pakowane zgodnie z obowiązującymi przepisami dotyczącymi transportu patogenów etiologicznych.

Próbki ikteryczne, lipemiczne, hemolityczne, lepkie, poddane obróbce cieplnej lub zanieczyszczone mogą powodować błędne wyniki testu.

9. Przeprowadzanie testu

Przed przeprowadzeniem testu, doprowadzić wszystkie testy, próbki i/lbo kontrole do temperatury pokojowej (15-30°C).

1. Wyciągnąć pasek testowy z opakowania foliowego i użyć ją tak szybko, jak to możliwe. Najlepsze wyniki zostają osiągnięte, gdy test przeprowadzony zostaje bezpośrednio po jego otwarciu. Oznaczyć pasek testowy z danymi pacjenta oraz identyfikacją kontrolną.

2. Pasek testowy położyć na czystą i równą powierzchnię.

3. a) **W przypadku surowicy, osocza lub pełnej krwi próbką z nakłucia żyły:**

- Trzymając pipetę pionowo, dodać 2 krople (około 80 µL) próbki na płytkę paska testowego.

- Trzymać butelkę z buforem pionowo i dodać 1 kroplę bufora (około 40 µL).

b) **W przypadku próbek krwi pełnej z opuszki palca, wiszącą kroplą:**

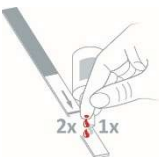
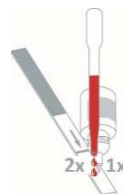
- Ułożyć palec pacjenta w taki sposób, żeby kropla krwi znajdowała się dokładnie nad płytką paska testowego.
- Pozwolić opaść 2 zwisającym kroplom krwi pełnej z nakłucia palca do środka płytki paska testowego.

- Trzymać butelkę z buforem pionowo i dodać 1 kroplę (około 40 µL) bufora.

Unikać ściskania palca, ponieważ może to prowadzić do błędnych wyników testu.

4. Włączyć stoper.

Jeżeli test się rozpocznie, zaobserwować jak kolorowa ciecz wędruje wzdłuż membrany.



5. Począć na pojawienie się kolorowej/owych linii. Wynik należy interpretować po upływie 10 minut. Nie interpretować wyników po upływie więcej jak 30 minut.



10. Interpretacja wyników

Pozytywny

Jedna kolorowa linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej (C), druga kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej (T).



Wskazówka:

Intensywność kolorów w obszarze linii testowej (T) może różnić się, w zależności od stężenia analitów, które zawarte są w próbce. Każdy odcień w obszarze linii testowej (T), należy uznać za wynik dodatni. Należy mieć na uwadze, że jest to test jakościowy i nie można nim określać stężenia analitów w próbce.

Negatywny

W obszarze linii kontrolnej (C) pojawia się kolorowa linia. W obszarze linii testowej (T) nie pojawia się kolorowa linia.



Nieważny

Linia kontrolna (C) nie pojawia się. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytworzyły linii kontrolnej, muszą zostać odrzucone.

Należy sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowego paska testowego. Jeżeli problem będzie występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniej przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej.



11. Kontrola jakości

Pasek testowy zawiera wewnętrzną kontrolę procesową: pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) kolorowa linia, traktowana jest jako kontrola procesowa. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany. Dobra praktyka laboratoryjna zaleca stosowanie materiałów kontrolnych do oznaczania poprawnej wydajności zestawu testowego.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Syphilis jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in-vitro*. Testu należy używać wyłącznie do jakościowego wykrywania przeciwciał anty-*T. pallidum* IgM i IgG w próbkach ludzkiej krwi pełnej, surowicy lub osocza.
- Ani wartość ilościowa, ani tempo wzrostu/spadku stężenia przeciwciał *T. pallidum* nie może być określona za pomocą tego testu.
- Dokładność testu zależna jest od jakości próbek. Nieprawidłowe wyniki mogą wynikać z niewłaściwego pobierania lub przechowywania próbek (patrz punkt 8. „Pobieranie, przygotowanie i przechowywanie próbek”).

- Niektóre próbki o niezwykle wysokich mianach przeciwciał heterofilnych lub czynników reumatoidalnych mogą zakłócać wyniki testu.
- Tak jak w przypadku wszystkich testów diagnostycznych, wszystkie wyniki muszą być interpretowane w połączeniu z innymi klinicznymi informacjami, które dostępne są lekarzowi.
- Test NADAL® Syphilis wskazuje jedynie na obecność przeciwciał *T. pallidum* w próbce i nie powinien być traktowany jako jedyne kryterium przy diagnozie infekcji *T. pallidum*.
- Jeżeli wynik testu jest negatywny, a objawy kliniczne dalej będą się utrzymywać, zaleca się przeprowadzenie dodatkowych badań, przy zastosowaniu innych metod klinicznych. Wynik ujemny nigdy nie wyklucza możliwości infekcji *T. pallidum*.

13. Charakterystyka testu

Właściwości kliniczne

Czułość i swoistość diagnostyczna

Test NADAL® Syphilis został oceniony przy użyciu klinicznych próbek pełnej krwi w porównaniu z innym dostępnym na rynku szybkim testem TPHA Syphilis Rapid Test.

Wyniki przedstawione zostały w poniższej tabeli:

		Inny szybki test TPHA Syphilis		
Test NADAL® Syphilis		Pozytywny	Negatywny	Suma
	Pozytywny	411	8	419
	Negatywny	6	529	535
Suma		417	537	954

Czułość diagnostyczna: 98,6% (96,9% - 99,5%)*

Swoistość diagnostyczna: 98,5% (97,1% - 99,4%)*

Ogólna zgodność: 98,5% (97,6% - 99,2%)*

*95% przedział ufności

Właściwości analityczne

Swoistość analityczna

Badanie reakcji krzyżowych

Ujemne próbki krwi pełnej zostały wzbogacone następującymi substancjami potencjalnie reagującymi krzyżowo i przetestowane testem NADAL® Syphilis:

Substancja	Stężenie
HAMA	1000 ng/mL
HBsAb	Pozytywny
HBeAb	Pozytywny
anty- <i>H. pylori</i> IgG	Pozytywny
anty-IgM wirusa różyczki	Pozytywny
Czynniki reumatoidalne	8400 IU/mL
anty-HBeAg IgM	Pozytywny
anty-HCV IgM	Pozytywny
anty-EBV Ab	Pozytywny
anty- <i>Toxoplasma gondii</i> IgM	Pozytywny
HbsAg	Pozytywny
HbeAb	Pozytywny
anty-HIV IgM	Pozytywny
anty-CMV IgM	Pozytywny

W teście NADAL® Syphilis nie zaobserwowano reaktywności krzyżowej z próbkami.

Badanie interferencji

Negatywne próbki krwi pełnej oraz słabo dodatnie próbki surowicy zostały wzbogacone następującymi potencjalnie zakłócającymi substancjami w podanych poniżej stężeniach i nie wykazały zakłóceń w teście NADAL® Syphilis.

Substancja	Stężenie	Substancja	Stężenie
Acetaminofen	0,2 mg/mL	Kofeina	0,2 mg/mL
Kwas acetylosalicylowy	0,2 mg/mL	Kwas gentyzynowy	0,2 mg/mL
Kwas askorbinowy	20 mg/mL	Albumina	20 mg/mL
Kreatyna	2 mg/mL	Hemoglobina	0,011 mg/mL
Billirubina	10 mg/mL	Kwas szczawowy	6 mg/mL

Precyzyjność

Powtarzalność

Powtarzalność określono testując 20 powtórzeń próbek ujemnych, słabo, średnio i wysoko dodatnich za pomocą 3 niezależnych serii testów NADAL® Syphilis. >99% próbek zostało prawidłowo oznaczonych (20/20 prawidłowych testów na stężenie, 95% przedział ufności: 95,5-100%). Test NADAL® Syphilis wykazał akceptowalną powtarzalność.

Odtwarzalność

Odtwarzalność określono, testując 5 powtórzeń próbek ujemnych, słabo, średnio i wysoko dodatnich. Testy zostały przeprowadzone w 5 różnych dniach przez 4 użytkowników z 3 niezależnymi partiami testu NADAL® Syphilis w 3 różnych lokalizacjach. >99% próbek zostało oznaczonych poprawnie (100/100 prawidłowe testy na stężenie, 95% przedział ufności: 99,3%-100%). Test NADAL® Syphilis wykazał akceptowalną powtarzalność.

14. Powiadomienie o poważnych incydentach

W przypadku poważnych incydentów związanych z przeprowadzeniem testu NADAL® Syphilis, należy niezwłocznie poinformować o tym nal von minden GmbH i właściwy organ. Jeśli to możliwe, **nie wyrzucać** użytego testu i odpowiednich części zestawu testowego.

15. Bibliografia

- Centers for Disease Control (CDC). Chlamydia trachomatis infections. Policy guidelines for prevention and control. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1985 Aug 23; 34 Suppl 3: 53S-74S.
- Tichonova L, Borisenko K, Ward H, Meheus A, Gromyko A, Renton A. Epidemics of syphilis in the Russian Federation: trends, origins, and priorities for control. Lancet. 1997 Jul 19; 350(9072): 210-3.
- Norgard MV, Chamberlain NR, Swancutt MA, Goldberg MS. Cloning and expression of the major 47-kilodalton surface immunogen of Treponema pallidum in Escherichia coli. Infect Immun. 1986 Nov; 54(2): 500-6.

Rev. 1, 2023-02-23 AM

1. Utilização Pretendida

O Teste NADAL® Syphilis é um imunoensaio cromatográfico de fluxo lateral para a detecção qualitativa dos IgM e IgG anti-*Treponema pallidum* (*T. pallidum*) em amostras humanas de sangue total, soro ou plasma. O teste destina-se a ser utilizado como um auxílio no diagnóstico da sífilis em pacientes com suspeita de infecção por sífilis (ver secção 12 "Limitações"). O procedimento do teste não é automatizado e não requer qualquer tipo de formação ou qualificação especial. O Teste NADAL® Syphilis foi concebido apenas para uso profissional.

2. Introdução e Significado Clínico

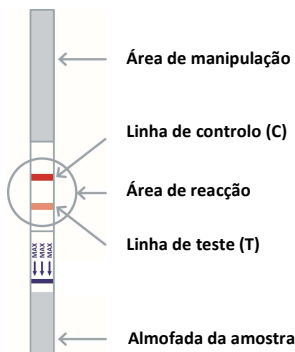
O *Treponema pallidum* (*T. pallidum*), uma bactéria espiroqueta com uma membrana celular externa e uma membrana citoplasmática, é o agente causador da doença venérea conhecida como sífilis. Apesar das taxas da sífilis se encontrarem em declínio nos Estados Unidos após uma epidemia entre 1986 e 1990, a incidência da sífilis na Europa tem vindo a aumentar desde 1992, em especial nos estados da Federação Russa, onde têm sido reportados picos de 263 casos por cada 100.000. Adicionalmente, a taxa positiva de resultados dos testes serológicos para a sífilis em indivíduos infectados pelo HIV tem vindo recentemente a aumentar.

Há muito que a detecção serológica dos anticorpos específicos ao *T. pallidum* é reconhecida no diagnóstico da sífilis, uma vez que o curso natural da infecção é caracterizado por períodos sem manifestações clínicas. A resposta dos anticorpos ao *T. pallidum* pode ser detetada dentro de 4 a 7 dias após o aparecimento do cancro da sífilis, o que permite a detecção e o diagnóstico precoce de uma infecção por sífilis.

Diversos antígenos, tais como a Cardiolipina (teste RPR), o antígeno VDRL e os extratos de *T. pallidum* derivados de culturas *in-vitro* ou de testes de coelhos inoculados, têm sido utilizados nos testes serológicos da sífilis. No entanto, os antígenos RPR e VDRL não são treponémicos específicos e os extratos de *T. pallidum* não são reprodutíveis na sua totalidade e contém uma certa quantidade de materiais contaminantes, como flagelos, que poderão levar a uma reação não específica nos ensaios dos testes de soro.

3. Princípio do Teste

O Teste NADAL® Syphilis permite a detecção dos IgM e IgG anti-*T. pallidum* através da interpretação visual do desenvolvimento de cor que surge na tira de teste. Os antígenos recombinantes específicos do *T. pallidum* são imobilizados na região da linha de teste (T) da membrana. Durante o teste, a amostra reage com os antígenos do *T. pallidum* que são conjugados a partículas coloridas e pré-revestidos na almofada de conjugação da tira de teste. A mistura migra então ao longo da membrana por ação capilar e interage com os reagentes da membrana. Se houver um número suficiente de anticorpos anti-*T. pallidum* na amostra, desenvolver-se-á uma linha colorida na região da linha de teste (T) da membrana. A presença desta linha colorida indica um resultado positivo, enquanto que a sua ausência indica um resultado negativo. A formação de uma linha colorida na região da linha de controlo (C) serve de controlo do procedimento, indicando que um volume adequado de amostra foi adicionado e que ocorreu a absorção pela membrana.



4. Reagentes e Materiais Fornecidos

- 40 tiras de teste NADAL® Syphilis, incl. pipetas descartáveis (40 µL)
- 2 frascos de solução tampão "Buffer" (4 mL cada)*
- 1 folheto informativo

* contendo o seguinte conservante: ProClin™ 300: <0,03%. Não é necessária a rotulagem dos perigos para o ProClin™ 300, nos termos do Regulamento (CE) Nº 1272/2008 CLP. As concentrações são inferiores ao limiar de isenção de <0,03%.

5. Materiais Adicionais Necessários

- Recipientes de recolha de amostras (adequados ao material de amostra a ser testado)
- Centrífuga (apenas para amostras de soro ou plasma)
- Compressas embebidas em álcool
- Lancetas (apenas para amostras de sangue total por punção no dedo)
- Temporizador

6. Armazenamento e Estabilidade

Os kits de teste devem ser armazenados a 2-30°C até à data de validade indicada. As tiras de teste são estáveis até à data de validade impressa nas embalagens de alumínio. As tiras de teste devem permanecer nas embalagens de alumínio seladas até à data de utilização. Não congelar os kits de teste. Não utilizar os kits de teste para além da data de validade indicada nas embalagens. Deverão ser tomadas precauções a fim de proteger os componentes dos kits de teste de contaminações. Não utilizar os componentes dos kits de teste se existirem evidências de contaminação microbiana ou de precipitação. A contaminação biológica do equipamento de dispensação, dos recipientes ou dos reagentes pode conduzir a resultados imprecisos.

7. Advertências e Precauções

- Apenas para uso profissional de diagnóstico *in-vitro*.
- Ler cuidadosamente todas as instruções de utilização antes de iniciar o teste.
- Não utilizar o teste após a data de validade indicada na embalagem.
- Não utilizar os componentes do kit de teste se a embalagem primária estiver danificada.
- Os testes são de utilização única.

- Não adicionar amostras à área de reação (área de resultado).
- A fim de evitar a contaminação, não tocar na área de reação (área de resultado).
- Evitar a contaminação cruzada de amostras, utilizando um novo recipiente de recolha de amostras para cada amostra obtida.
- Não substituir ou misturar componentes de diferentes kits de teste.
- Não utilizar a solução tampão se esta estiver descolorida ou turva. A descoloração ou turvação pode ser um sinal de contaminação microbiana.
- Não comer, beber ou fumar na área de manuseamento das amostras e dos kits de teste.
- Utilizar vestuário de proteção como bata de laboratório, luvas descartáveis e proteção ocular durante o manuseamento e testagem das amostras.
- Manusear todas as amostras como se contivessem agentes infecciosos. Observar as precauções estabelecidas quanto aos riscos microbiológicos durante todos os procedimentos e respeitar as diretrizes padrão para a eliminação apropriada das amostras.
- O kit de teste contém produtos de origem animal. O conhecimento certificado da origem e/ou estado sanitário dos animais não garante completamente a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. Por conseguinte, é recomendado que estes produtos sejam tratados como potencialmente infecciosos e manuseados de acordo com as precauções de segurança habituais (e.g., não ingerir ou inalar).
- A temperatura pode afetar negativamente os resultados dos testes.
- Os materiais de teste utilizados devem ser eliminados de acordo com os regulamentos locais.

8. Recolha e Preparação das Amostras

O Teste NADAL® Syphilis pode ser realizado utilizando o sangue total (de punção venosa ou punção no dedo), soro ou plasma.

Para recolher amostras de sangue total por punção no dedo:

- Lavar a mão do paciente com sabão e água morna ou limpa com uma compressa embebida em álcool. Deixar secar.
- Massajar a mão, sem tocar no local da punção, esfregando a mão em direção à ponta do dedo do meio ou do dedo anelar.
- Puncionar a pele com uma lanceta esterilizada. Limpar a primeira gota de sangue.
- Esfregar suavemente a mão desde o pulso até à palma da mão, e depois até ao dedo para formar uma gota arredondada de sangue sobre o local da punção.

O sangue total do dedo deve ser testado de imediato.

Amostras de sangue total de punção venosa

Recipientes contendo anticoagulantes, tais como o EDTA, o citrato de sódio ou a heparina de sódio devem ser utilizados para a preparação das amostras de sangue total venoso ou plasma.

Os testes devem ser realizados imediatamente após a recolha das amostras. Não deixar as amostras à temperatura ambiente durante longos períodos de tempo.

Se o teste tiver de ser realizado dentro de 2 dias após a recolha da amostra, o sangue total recolhido por punção venosa deve ser armazenado a 2-8°C.

Não congelar as amostras de sangue total.

Amostras de soro e plasma

Separar o soro ou o plasma do sangue logo que possível para evitar a hemólise. Utilizar apenas amostras claras e não hemolisadas.

Os testes devem ser realizados imediatamente após a recolha da amostra. Não deixar as amostras à temperatura ambiente durante longos períodos de tempo. As amostras de soro e plasma podem ser armazenadas a 2-8°C por um período máximo de 3 dias. No caso de armazenamento a longo prazo, as amostras devem ser mantidas a -20°C.

Colocar as amostras à temperatura ambiente antes de serem testadas. As amostras congeladas devem ser completamente descongeladas e bem misturadas antes de serem testadas. As amostras não devem ser congeladas e descongeladas repetidamente.

Se as amostras tiverem de ser enviadas, devem ser embaladas em conformidade com todos os regulamentos aplicáveis para o transporte de agentes etiológicos.

Amostras ictericas, lipémicas, hemolisadas, viscosas, tratadas termicamente e contaminadas são passíveis de conduzir a resultados imprecisos do teste.

9. Procedimento do Teste

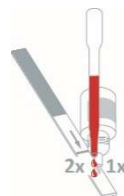
Colocar os testes, as amostras, a solução tampão e/ou os controlos à temperatura ambiente (15-30°C) antes da realização dos testes.

1. Retirar a tira de teste da embalagem de alumínio e utilizá-la o mais rapidamente possível. Obter-se-ão os melhores resultados se o teste for realizado imediatamente após a abertura da embalagem de alumínio. Identificar a tira de teste com a identificação do paciente ou do controlo.

2. Colocar a tira de teste numa superfície limpa e nivelada.

3. a) Para amostras de soro, plasma ou de sangue total venoso

- Segurando uma pipeta na vertical, transferir 2 gotas (aproximadamente 80 µL) da amostra para a almofada de amostra da tira de teste.
- Segurando o frasco da solução tampão na vertical, adicionar 1 gota (cerca de 40 µL) de solução tampão para a almofada da amostra.



b) Para amostras de sangue total por punção no dedo, utilizando gotas suspensas:

- Posicionar o dedo do paciente de modo a que uma gota de sangue fique exatamente por cima da almofada de amostra da tira de teste.

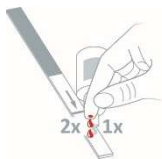
- Deixar cair 2 gotas de sangue total no centro da almofada de amostra da tira de teste.

- Segurando o frasco da solução tampão na vertical, adicionar 1 gota (cerca de 40 µL) de solução tampão para a almofada da amostra. **Evitar apertar o dedo, uma vez que isso pode levar a resultados imprecisos do teste.**

4. Iniciar o temporizador.

A medida que o teste é iniciado, observar-se-á a migração de um líquido colorido ao longo da membrana.

5. Aguardar que a(s) linha(s) colorida(s) surja(m). Ler o resultado do teste após 10 minutos. Não interpretar o resultado após mais de 30 minutos.



10. Interpretação dos Resultados

Positivo:

Uma linha colorida surge na região da linha de controlo (C) e outra linha colorida surge na região da linha de teste (T).



Nota: A intensidade da cor na região da linha de teste (T) poderá variar em função da concentração do analito presente na amostra. Qualquer tonalidade de cor na região da linha de teste (T) deve ser considerada positiva. Note-se que este é apenas um teste qualitativo e não pode determinar a concentração do analito na amostra.

Negativo:

Surge uma linha de cor na região da linha de controlo (C). Não aparece uma linha na região da linha de teste (T).



Inválido:

A linha de controlo (C) não aparece. Os resultados de qualquer teste que não tenha produzido uma linha de controlo no tempo de leitura especificado devem ser descartados.



Por favor, reveja o procedimento e repita o teste com uma nova tira de teste. Se o problema persistir, interrompa imediatamente a utilização do kit de teste e contacte o seu distribuidor.

Um volume insuficiente de amostra, um procedimento operacional incorreto ou testes caducados são as razões mais prováveis para a falha da linha de controlo.

11. Controlo de Qualidade

Um controlo do procedimento interno é incluído na tira de teste:

A linha colorida que surge na região da linha de controlo (C) é considerada um controlo do procedimento interno. Esta confirma um volume suficiente de amostra, um procedimento técnico correto e uma absorção adequada pela membrana.

As *Boas Práticas de Laboratório (BPL)* recomendam a utilização de materiais de controlo externo para assegurar o desempenho adequado do kit de teste.

12. Limitações

- O Teste NADAL® Syphilis destina-se apenas à utilização profissional de diagnóstico *in-vitro*. O teste deve ser utilizado apenas para a deteção qualitativa de IgM e IgG anti-*T. pallidum* em amostras humanas de sangue total, soro ou plasma.
- Tanto o valor quantitativo como a taxa de aumento/diminuição da concentração de anticorpos anti-*T. pallidum* não podem ser determinados utilizando este teste qualitativo.
- A precisão do teste depende da qualidade da amostra. Podem ocorrer resultados de teste imprecisos devido à recolha ou armazenamento inadequado da amostra (ver secção 8 "Recolha e Preparação das Amostras").
- Algumas amostras contendo títulos invulgarmente elevados de anticorpos heterófilos ou factores reumatóides podem afetar os resultados do teste.
- Tal como em todos os testes de diagnóstico, todos os resultados devem ser interpretados por um médico em conjunto com outras informações clínicas disponíveis.
- O Teste NADAL® Syphilis deteta apenas a presença de anticorpos de *T. pallidum* em amostras e não deve ser utilizado como único critério para um diagnóstico de infeção por *T. pallidum*.
- Se o resultado do teste for negativo, mas os sintomas clínicos persistirem, recomenda-se a realização de testes adicionais utilizando outros métodos clínicos. Um resultado negativo não exclui em momento algum a possibilidade de uma infeção por *T. pallidum*.

13. Características de Desempenho

Desempenho clínico

Sensibilidade e especificidade diagnóstica

O Teste NADAL® Syphilis foi avaliado utilizando amostras clínicas de sangue total em comparação com outro teste rápido de sífilis TPHA disponível comercialmente.

Os resultados são apresentados na tabela seguinte:

Teste NADAL® Syphilis	Outro teste rápido de sífilis TPHA			
		Positivo	Negativo	Total
	Positivo	411	8	419
	Negativo	6	529	535
Total		417	537	954

Sensibilidade diagnóstica: 98,6% (96,9% - 99,5%)*

Especificidade diagnóstica: 98,5% (97,1% - 99,4%)*

Concordância global: 98,5% (97,6% - 99,2%)*

* intervalo de confiança de 95%

Desempenho analítico

Especificidade analítica

Estudo da reatividade cruzada

As seguintes substâncias com potencial de reação cruzada foram adicionadas a amostras negativas de sangue total e estas foram testadas utilizando o Teste NADAL® Syphilis:



Substância	Concentração
HAMA	1000 ng/mL
HBsAb	Positivo
HBeAb	Positivo
anti- <i>H. pylori</i> IgG	Positivo
vírus anti-rubéola IgM	Positivo
Fatores reumatóides (FR)	8400 IU/mL
anti-HBeAg IgM	Positivo
anti-HCV IgM	Positivo
anti-EBV Ab	Positivo
anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgM	Positivo
HBsAg	Positivo
HBeAb	Positivo
anti-HIV IgM	Positivo
anti-CMV IgM	Positivo

Não foi observada qualquer reatividade cruzada com as amostras quando testadas utilizando o Teste NADAL® Syphilis.

Estudo de interferências

Amostras de sangue total negativas e amostras de soro fracamente positivas, contendo as seguintes substâncias potencialmente interferentes nas concentrações listadas abaixo, não mostraram qualquer interferência com o Teste NADAL® Syphilis.

Substância	Concentração	Substância	Concentração
Acetaminofeno	0,2 mg/mL	Cafeína	0,2 mg/mL
Ácido acetilsalicílico	0,2 mg/mL	Ácido gentísico	0,2 mg/mL
Ácido ascórbico	20 mg/mL	Albumina	20 mg/mL
Creatina	2 mg/mL	Hemoglobina	0,011 mg/mL
Bilirrubina	10 mg/mL	Ácido oxálico	6 mg/mL

Precisão

Repetibilidade

A repetibilidade foi estabelecida ao testar 20 réplicas de amostras negativas, fracas, moderadas e altamente positivas usando 3 lotes dos testes NADAL® Syphilis. >99% das amostras foram identificadas corretamente (20/20 testes corretos por concentração, intervalo de confiança de 95%: 95,5-100%). O Teste NADAL® Syphilis demonstrou uma repetibilidade aceitável.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi estabelecida ao testar 5 réplicas de amostras negativas, fracas, moderadas e altamente positivas. Os testes foram realizados por 4 operadores utilizando 3 lotes independentes de testes NADAL® Syphilis em 3 locais e em 5 dias separados. >99% das amostras foram identificadas corretamente (100/100 testes corretos por concentração, intervalo de confiança de 95%: 99,3%-100%). O Teste NADAL® Syphilis demonstrou uma reprodutibilidade aceitável.

14. Notificação de incidentes graves

Em caso de quaisquer incidentes graves relacionados com a realização do Teste NADAL® Syphilis, por favor informe de

imediatamente a nal von minden GmbH e a autoridade competente. Se ainda for possível, não descarte o teste utilizado e os respetivos componentes do kit de teste.

15. Referências

1. Centers for Disease Control (CDC). Chlamydia trachomatis infections. Policy guidelines for prevention and control. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1985 Aug 23; 34 Suppl 3: 535-745.

2. Tichonova L, Borisenko K, Ward H, Meheus A, Gromyko A, Renton A. Epidemics of syphilis in the Russian Federation: trends, origins, and priorities for control. Lancet. 1997 Jul 19; 350(9072): 210-3.

3. Norgard MV, Chamberlain NR, Swancutt MA, Goldberg MS. Cloning and expression of the major 47-kilodalton surface immunogen of Treponema pallidum in Escherichia coli. Infect Immun. 1986 Nov; 54(2): 500-6.

Rev. 1, 2023-02-23 AO

1. Účel použití

Test NADAL® Syphilis je imunochromatografický test s laterálním tokem pro kvalitativní detekci protilátek IgM a IgG proti *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) ve vzorcích lidské plné krve, séra nebo plazmy. Test slouží jako pomoc při diagnóze syfilis u pacientů s podezřením na infekci syfilis (viz oddíl 12 "Omezení"). Provedení testu není automatizované a pro jeho provedení není nutné žádné speciální školení nebo kvalifikace. Test NADAL® Syphilis je určen pouze k profesionálnímu použití.

2. Úvod a klinický význam

Treponema pallidum (*T. pallidum*), spirochéta, bakterie s vnější buněčnou membránou a cytoplazmatickou membránou, je původcem pohlavní nemoci známé jako syfilis. Přestože po epidemii v letech 1986-1990 míra výskytu syfilis ve Spojených státech klesá, v Evropě se od roku 1992 výskyt syfilis zvyšuje, a to zejména ve státech Ruské federace, kde bylo hlášeno 263 případů na 100 000 obyvatel. Kromě toho se v poslední době zvyšuje počet pozitivních výsledků sérologických testů na syfilis u osob infikovaných HIV.

Sérologická detekce specifických protilátek proti *T. pallidum* je v diagnostice syfilis již dlouho uznávána, neboť přirozený průběh infekce je charakterizován jako období bez klinických projevů. Reakce protilátek na *T. pallidum* může být prokázána během 4 až 7 dnů po vytvoření vředu, což umožňuje včasnou detekci a diagnózu infekce syfilis.

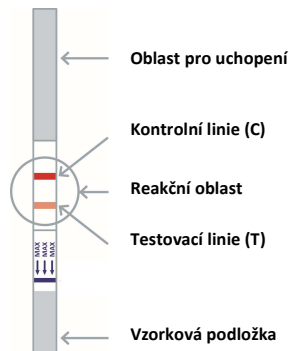
V sérologických testech na syfilis byla použita řada antigenů, např. kardiolipin (RPR test), antigen VDRL a výtažky z *T. pallidum* získané z *in-vitro* kultivace nebo z inokulovaných králíčích varlat. Antigeny RPR a VDRL však nejsou treponemově specifické a celé extrakty *T. pallidum* nejsou reprodukovatelné a obsahují určité množství kontaminujících materiálů, jako bičiky, které mohou vést k nespecifické reakci v analýze testovacího séra.

3. Princip testu

Test NADAL® Syphilis umožňuje detekci protilátek IgM a IgG proti *T. pallidum* prostřednictvím vizuální interpretace barevných změn na testovacím proužku. Specifická rekombinace antigenů *T. pallidum* je imobilizována v oblasti testovací linie (T) na membráně. Během testu reaguje vzorek s antigeny *T. pallidum*, které jsou konjugovány s barevnými částicemi a předem naneseny na konjugací podložku testovacího proužku. Směs poté dále putuje membránou působením kapilárních sil a reaguje s činidly na membráně. Pokud je ve vzorku dostatečné množství protilátek proti *T. pallidum*, zobrazí se barevná linie v oblasti testovací linie (T) na membráně. Zobrazení této barevné linie poukazuje na pozitivní výsledek, zatímco její nezobrazení svědčí o výsledku negativním. Zobrazení barevné linie v oblasti kontrolní linie (C) slouží jako procedurální kontrola a indikuje, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku a že došlo k přemožení membrány.

4. Činidla a dodávané materiály

- 40 NADAL® Syphilis testovacích proužků, vč. jednorázových pipet (40 µL)
- 2 lahvičky pufru "Buffer" (každá 4 mL)*
- 1 návod k použití



*obsahuje následující konzervanty: ProClin™ 300: <0,03%. V souladu s nařízením (ES) č. 1272/2008 CLP není pro ProClin™ 300 povinné označování nebezpečnosti. Koncentrace jsou nižší než mezní limit <0,03%.

5. Další potřebné materiály

- Nádobý pro odběr vzorku (vhodné pro testovaný vzorek)
- Centrifuga (pouze pro vzorky séra nebo plazmy)
- Alkoholové tampóny
- Lancety (pouze pro vzorky plné krve z prstu)
- Stopky

6. Skladování a trvanlivost

Testovací sady by měly být skladovány při 2-30°C do data expirace. Testovací proužky jsou trvanlivé až do data expirace vytištěného na zapečetěné ochranné fólii. Testovací proužky by do doby použití měly zůstat v zapečetěném sáčku. Testovací sady nezmrazujte. Testy nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na obalu. Dbejte na to, aby nedošlo ke kontaminaci komponentů sady. Komponenty testovací sady nepoužívejte, pokud existuje podezření, že došlo k mikrobiální kontaminaci nebo srážení. Biologická kontaminace pipet, nádob nebo činidel může vést k nesprávným výsledkům.

7. Varování a bezpečnostní opatření

- Pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.
- Před testováním si pečlivě přečtěte celý návod k použití.
- Test nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na obalu.
- Nepoužívejte komponenty testovací sady, je-li primární obal poškozen.
- Testy jsou určeny pouze k jednorázovému použití.
- Nenanašujte vzorek do reakční oblasti (výsledková oblast).
- Nedotýkejte se reakční oblasti (výsledková oblast), aby nedošlo ke kontaminaci.
- Pro každý vzorek používejte novou nádobu, aby se zabránilo křížové kontaminaci vzorků.
- Nezaměňujte a nemíchejte komponenty z různých testovacích sad.
- Nepoužívejte pufr, pokud je zbarvený nebo zakalený. Zbarvení nebo zakalení může být známkou mikrobiální kontaminace.
- Nejezte, nepijte ani nekuřte v místě, kde se zachází se vzorky a testovacími sadami.

- Během testování vzorků používejte ochranný oděv jako laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle.
- Se všemi vzorky zacházejte jako s potencionálně infekčními. V průběhu všech testovacích kroků dodržujte zavedená opatření pro prevenci mikrobiologických rizik a řiďte se standardními předpisy pro správnou likvidaci vzorků.
- Testovací sada obsahuje produkty živočišného původu. Znalost původu a/nebo zdravotního stavu zvířat doložená certifikátem zcela nezaručuje absenci přenosných patogenů. Je tudíž doporučeno s těmito produkty zacházet jako s potencionálně infekčními a dle běžných bezpečnostních opatření (např. nepolykejte nebo nevdechujte).
- Teplota může nepříznivě ovlivnit výsledky testu.
- Použité testovací materiály by měly být zlikvidovány v souladu s místními předpisy.

8. Odběr a příprava vzorku

Test NADAL® Syphilis může být proveden se vzorky plné krve (venózní nebo z prstu), séra nebo plazmy.

Odběr vzorku plné krve z prstu:

- Umyjte pacientovu ruku pomocí mýdla a teplé vody nebo ji očistěte alkoholovým tampónem. Nechte oschnout.
- Masírujte ruku a třete ji směrem k bříšku prostředníčku nebo prsteníčku, aniž byste se dotkli místa vpichu.
- Propíchněte pokožku pomocí sterilní lancety. První kapku krve setřete.
- Opatrně třete ruku od zápěstí k dlaní a poté k prstu a vytvořte kulatou kapku krve na místě vpichu.

Plná krev z prstu by měla být testována okamžitě.

Vzorky plné krve odebrané venepunkcí

Pro přípravu vzorků venózní plné krve nebo plazmy by měly být použity nádoby obsahující antikoagulanty jako EDTA, citronan sodný nebo heparin sodný.

Testování by mělo proběhnout ihned po odběru vzorku. Nenechávejte vzorky po delší dobu při pokojové teplotě.

Pokud bude test proveden do 2 dnů od odběru vzorku, měla by být plná krev odebraná venepunkcí skladována při teplotě 2-8°C.

Vzorky plné krve nezmrazujte.

Vzorky séra a plazmy

Oddělte sérum nebo plazmu od krve co nejdříve, aby se předešlo hemolýze. Používejte pouze čisté, nehemolyzované vzorky.

Testování by mělo proběhnout ihned po odběru vzorku. Nenechávejte vzorky po delší dobu při pokojové teplotě. Vzorky séra a plazmy mohou být skladovány při teplotě 2-8°C po dobu nejdéle 3 dnů. V případě dlouhodobého skladování udržujte vzorky při teplotě -20°C.

Před testováním nechte vzorky dosáhnout pokojové teploty. Zmrazené vzorky by měly být před testováním řádně rozmrazeny a promíchány. Vzorky opakovaně nezmrazujte a nerozmrazujte.

Pokud jsou vzorky přepravovány, měly by být zabalené v souladu s místními předpisy pro přepravu etiologických agens.

Ikterické, lipemické, hemolyzované, viskózní, tepelně ošetřené a kontaminované vzorky mohou způsobit chybné výsledky.

9. Provedení testu

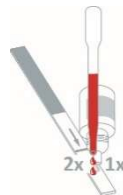
Testy, vzorky, pufr a/nebo kontroly nechte před testováním dosáhnout pokojové teploty (15-30°C).

1. Testovací proužek vyjměte ze zapečetěné fólie a použijte jej co nejdříve. Nejlepších výsledků dosáhnete, pokud test provedete okamžitě po otevření zapečetěné fólie. Vyznačte na testovací proužek identifikaci pacienta nebo kontroly.

2. Položte testovací proužek na čistou a rovnou plochu.

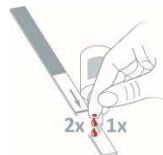
3. **a) Pro vzorky séra, plazmy nebo venózní plné krve:**

- Držte pipetu svisle, přeneste 2 kapky (cca 80 µL) vzorku na vzorkovou podložku testovacího proužku.
- Držte lahvičku s pufrům svisle, přeneste 1 kapku (cca 40 µL) pufru na vzorkovou podložku.



b) Pro vzorky plné krve z prstu pomocí visících kapek:

- Pacientův prst nastavte tak, aby kapka krve byla přímo nad vzorkovou podložkou testovacího proužku.
- Nechte 2 visící kapky plné krve z prstu spadnout do středu vzorkové podložky testovacího proužku.
- Držte lahvičku s pufrům svisle, přeneste 1 kapku (cca 40 µL) pufru na vzorkovou podložku. **Vyvarujte se stlačování prstů, mohlo by to vést k nepřesným výsledkům.**



4. Spusťte stopky.

Když se spustí testovací proces, uvidíte barevnou kapalinu vzlínat podél membrány.

5. Vyčkejte, dokud se nezobrazí barevná/barevné linie. Výsledek testu odečtěte po 10 minutách. Výsledky testu neodečtěte po více než 30 minutách.



10. Vyhodnocení výsledků

Pozitivní:

Jedna barevná linie se objeví v oblasti kontrolní linie (C) a druhá barevná linie se objeví v oblasti testovací linie (T).



Poznámka: Intenzita barvy v oblasti testovací linie (T) se může lišit v závislosti na koncentraci analytu přítomného ve vzorku. Každý barevný odstín v oblasti testovací linie (T) by měl být vyhodnocen jako pozitivní. Mějte na vědomí, že se jedná pouze o kvalitativní test, který neurčuje koncentraci analytu ve vzorku.

Negativní:

Barevná linie se objeví v oblasti kontrolní linie (C). Žádná linie se neobjeví v oblasti testovací linie (T).



Neplatný:

Nezobrazí se kontrolní line (C). Výsledek jakéhokoli testu, na kterém se ve stanoveném čase pro odečítání výsledků nezobrazila kontrolní linie, musí být znehodnoceny.

Revidujte prosím postup a zopakujte test s novým testovacím proužkem. Pokud problém přetrvává, přestaňte ihned používat testovací sadu a kontaktujte Vašeho distributora.

Nedostatečné množství vzorku, nesprávné provedení testu nebo prošlý test jsou nejpravděpodobnější důvody k nezobrazení kontrolní linie.

**11. Kontrola kvality**

Interní procedurální kontrola je zahrnuta v testovacím proužku:

Barevná linie, která se objeví v oblasti kontrolní linie (C) je považována za interní procedurální kontrolu. Potvrzuje použití dostatečného množství vzorku, dodržení správného postupu a dostatečné promočení membrány.

Správná laboratorní praxe (SLP) doporučuje používání externích kontrol k ověření správné výkonnosti testovací sady.

12. Omezení

- Test NADAL® Syphilis slouží pouze k profesionální *in-vitro* diagnostice. Test by měl být použit pouze ke kvalitativní detekci protilátek IgM a IgG proti *T. pallidum* ve vzorcích lidské plné krve, séra nebo plazmy.
- Tímto kvalitativním testem nemohou být zjištěny ani kvantitativní hodnota ani míra zvýšení/snížení koncentrace protilátek proti *T. pallidum*.
- Přesnost testu závisí na kvalitě vzorku. Nepřesné výsledky testu se mohou objevit z důvodu nesprávného odebrání nebo skladování vzorku (viz kapitola 8 "Odběr a příprava vzorku").
- Některé vzorky, které obsahují nezvykle vysoké titry heterofilních protilátek nebo revmatoidní faktory, můžou ovlivnit výsledek testu.
- Stejně jako u všech diagnostických testů by měly být veškeré výsledky vyhodnoceny lékařem v souvislosti s dalšími dostupnými klinickými informacemi.
- Test NADAL® Syphilis detekuje pouze přítomnost protilátek *T. pallidum* ve vzorcích a neměl by být použit jako jediné kritérium pro diagnózu infekce *T. pallidum*.
- Je-li výsledek testu negativní, ale klinické symptomy přetrvávají, je doporučeno provést další testy za pomoci jiné metody. Negativní výsledek za žádných okolností nevylučuje možnost infekce *T. pallidum*.

13. Výkonnostní charakteristiky**Klinická výkonnost****Diagnostická senzitivita a specifita**

Test NADAL® Syphilis byl vyhodnocen za použití klinických vzorků plné krve ve srovnání s jiným komerčně dostupným TPHA syfilis rychlým testem.

Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Test NADAL® Syphilis	Jiný TPHA syfilis rychlý test			
		Pozitivní	Negativní	Celkem
	Pozitivní	411	8	419
	Negativní	6	529	535
Celkem		417	537	954

Diagnostická senzitivita: 98,6% (96,9% - 99,5%)*

Diagnostická specifita: 98,5% (97,1% - 99,4%)*

Celková shoda: 98,5% (97,6% - 99,2%)*

*95% interval spolehlivosti

Analytická výkonnost**Analytická specifita****Studie křížové reaktivity**

Negativní vzorky plné krve byly obohaceny o následující potencionálně křížově reaktivní látky a testovány za použití testu NADAL® Syphilis:

Látka	Koncentrace
HAMA	1000 ng/mL
HBsAb	Pozitivní
HBCAb	Pozitivní
protilátky IgG proti <i>H. pylori</i>	Pozitivní
protilátky IgM proti viru žardének	Pozitivní
revmatoidní faktory (RF)	8400 IU/mL
protilátky IgM proti HBeAg	Pozitivní
protilátky IgM proti HCV	Pozitivní
protilátky proti EBV Ab	Pozitivní
protilátky IgM proti <i>Toxoplasma gondii</i>	Pozitivní
HBsAg	Pozitivní
HBeAb	Pozitivní
protilátky IgM proti HIV	Pozitivní
protilátky IgM proti CMV	Pozitivní

Při testování pomocí testu NADAL® Syphilis nebyla zjištěna žádná křížová reaktivita se vzorky.

Studie interference

Negativní vzorky plné krve a slabě pozitivní vzorky séra obohacené o následující potencionálně interferující látky v níže uvedených koncentracích nevykázaly žádnou interferenci s testem NADAL® Syphilis.

Látka	Koncentrace	Látka	Koncentrace
Acetaminofen	0,2 mg/mL	Kofein	0,2 mg/mL
Kyselina acetylsalicylová	0,2 mg/mL	Kyselina gentisová	0,2 mg/mL
Kyselina askorbová	20 mg/mL	Albumin	20 mg/mL
Kreatin	2 mg/mL	Hemoglobin	0,011 mg/mL
Bilirubin	10 mg/mL	Kyselina šťavelová	6 mg/mL

Přesnost**Opakovatelnost**

Opakovatelnost byla stanovena testováním 20 replikátů negativních, slabě, středně nebo silně pozitivních vzorků za použití 3 šarží testů NADAL® Syphilis. >99% vzorků bylo identifikováno správně (20/20 správných testů na koncentraci,

95% interval spolehlivosti: 95,5-100%). Test NADAL® Syphilis prokázal přijatelnou opakovatelnost.

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost byla stanovena testováním 5 replikátů negativních, slabě, středně nebo silně pozitivních vzorků. Testování bylo provedeno 4 uživateli za použití 3 nezávislých šarží testu NADAL® Syphilis na 3 místech po dobu 5 samostatných dnů. 99% vzorků bylo identifikováno správně (100/100 správných testů na koncentraci, 95% interval spolehlivosti: 99,3%-100%). Test NADAL® Syphilis prokázal přijatelnou reprodukovatelnost.











14. Hlášení závažných incidentů











V případě jakýchkoliv závažných incidentů souvisejících s prováděním testu NADAL® Syphilis neprodleně informujte společnost nal von minden GmbH a příslušný úřad. Pokud je to možné, **nelikvidujte** použitý test a příslušné komponenty testovací sady.

15. Reference

1. Centers for Disease Control (CDC). Chlamydia trachomatis infections. Policy guidelines for prevention and control. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1985 Aug 23; 34 Suppl 3: 535-745.
2. Tichonova L, Borisenko K, Ward H, Meheus A, Gromyko A, Renton A. Epidemics of syphilis in the Russian Federation: trends, origins, and priorities for control. Lancet. 1997 Jul 19; 350(9072): 210-3.
3. Norgard MV, Chamberlain NR, Swancutt MA, Goldberg MS. Cloning and expression of the major 47-kilodalton surface immunogen of Treponema pallidum in Escherichia coli. Infect Immun. 1986 Nov; 54(2): 500-6.

Rev. 1, 2023-02-23 JV

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	<i>in-vitro</i> -Diagnostika	<i>in-vitro</i> diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnosticc <i>in vitro</i>	Producto sanitario para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Dispositivo medico- diagnostico <i>in-vitro</i>	Tylko do diagnostyki <i>in-vitro</i>
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Limite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Code du lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk	Norsk
	Conformidade com as normas européias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning	CE standardisert
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen	Les bruksanvisning nøye
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in-vitro</i>	<i>in-vitro</i> - diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för <i>in-vitro</i> -diagnostik	Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> - diagnostiek	Medicinsk udstyr til <i>in-vitro</i> -diagnostik	<i>in-vitro</i> diagnostic medisinsk enhet
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperatur- begränsning	Temperatuurlimiet	Temperatur- begrænsning	Temperatur begrænsning
	Código do lote	Kód šarže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchkode	Merkning
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertakäyttöinen	Får inte återanvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges	Må ikke brukes om igen
	Prazo de validade	Spotřebujete do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato	Tidtaking
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Best il lingsnummer	Katalog nummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant	Produsent
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test	Tilstrækkelig for<n> tester

Our Teams

Germany:**Regensburg**

Tel: +49 941 290 10-0

Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0

Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29

Free Tel: 0800 291 565

Fax: +49 290 10-50

Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18

Free Tel – UK: 0808 234 1237

Free Tel – IRE: 1800 555 080

Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240

France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720

Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82

Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux, Tel: 800 211 16

Lux, Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759

Free Tel: 900 938 315

Fax: +49 941 290 10-50

Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34

Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44

Free Tel: 00 800 491 15 95

Fax: +49 941 290 10-50

Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735

Tel, Verde: 800 849 230

Fax: +49 941 290 10-50

Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600

Free Tel: 0800 0222 890

Fax: +31 70 30 30 775

Free Fax: 0800 024 9519

Nordic countries:**Denmark**

Tel: +31 703075 605

Free Tel: 808 887 53

Finland

Tel: +31 703075 606

Free Tel: 0800 918 263

Free Fax: 0800 918 262

Norway

Tel: +31 703075 605

Free Tel: 800 16 731

Sweden

Tel: +31 703075 605

Free Tel: 020 79 09 06



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com

Tel: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1