

NADAL[®] Syphilis Test (test cassette)

REF 202001



DE Gebrauchsanweisung	2	DK Brugervejledning	23
EN Instruction for use	5	Symbols	27
FR Instructions d'utilisation	8	Our Teams	28
ES Instrucciones de uso	11		
IT Istruzioni per l'uso	14		
PL Sposób użycia	17		
CZ Návod k použití	20		



1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® Syphilis Test ist ein schneller Immunoassay für den qualitativen Nachweis von IgG und IgM Antikörpern gegen *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) in Vollblut, Serum oder Plasma. Der Test ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von Syphilis bestimmt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Treponema pallidum (*T. pallidum*) ist der Erreger der Geschlechtskrankheit Syphilis. *T. pallidum* ist eine Spirochäte, ein Bakterium mit einer äußeren Zellwand und einer Zytoplasmamembran.¹ Im Vergleich zu anderen bakteriellen Pathogenen ist relativ wenig über den Organismus bekannt. Laut dem Zentrum zur Kontrolle von Krankheiten (CDC) ist die Zahl der Syphilis-Infektionen seit 1985 markant angestiegen.² Einige Schlüsselfaktoren, die zu diesem Anstieg beigetragen haben, schließen die Crack-Kokain-Epidemie und die hohe Prostitutionsrate unter den Drogenbenutzern ein.³ Eine Studie berichtete über eine erhebliche Korrelation zwischen dem Erwerb und der Übertragung des HIV-Virus und Syphilis.⁴

Mehrere klinische Stadien und lange Perioden einer latenten, asymptomatischen Infektion sind für Syphilis charakteristisch. Das Primärstadium einer Syphilis-Infektion wird durch das Auftreten eines Schankers nachgewiesen. Die Antikörperantwort auf das *T. pallidum* Bakterium kann innerhalb von 4-7 Tagen nach dem Auftreten des Schankers nachgewiesen werden. Die Infektion bleibt nachweisbar bis der Patient eine entsprechende Behandlung erhält.⁵

Der NADAL® Syphilis Test basiert auf einer Kombination von mit Syphilis-Antigenen beschichteten Partikeln und immobilisierten Syphilis-Antigenen zum qualitativen und selektiven Nachweis von *T. pallidum*-Antikörpern in Vollblut, Serum oder Plasma.

3. Testprinzip

Der NADAL® Syphilis Test ist ein qualitativer Membranstreifen-Immunoassay für den Nachweis von *T. pallidum*-Antikörpern (IgG und IgM) in Vollblut-, Serum- oder Plasma-Proben. Bei diesem Testverfahren ist rekombinantes Syphilis-Antigen im Testlinienbereich des Streifens gebunden. Nach Zugabe der Probe in die Probenvertiefung der Testkassette reagiert diese mit den mit Syphilis-Antigen beschichteten Partikeln. Die Mischung wandert chromatographisch in Längsrichtung des Tests und reagiert mit den gebundenen Syphilis-Antigenen. Der Doppel-Antigentest kann beide Antikörper, IgM und IgG, in der Probe nachweisen. Wenn die Probe *T. pallidum*-Antikörper enthält, erscheint eine farbige Linie im Testlinienbereich und zeigt ein positives Ergebnis an. Enthält die Probe keine *T. pallidum*-Antikörper, so erscheint keine farbige Linie im Testlinienbereich und zeigt ein negatives Testergebnis an. Eine farbige Linie sollte immer im Bereich der Kontrolllinie erscheinen und dient als interne Testkontrolle, als Bestätigung, dass ein ausreichendes Probenvolumen hinzugefügt wurde und dass die Flüssigkeit die Membran vollständig durchdrungen hat.

4. Bestandteile der Testpackung

- 20 NADAL® Syphilis Testkassetten
- 20 Einwegpipetten
- 1 Puffer (nur für Vollblut)

- 1 Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Probensammelbehälter
- Lanzetten (nur für Vollblut aus der Fingerkuppe)
- Zentrifuge
- Stoppuhr
- Heparinisierte Kapillarröhrchen und Saugbällchen (nur für Vollblut aus der Fingerkuppe)

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Die Tests wie abgepackt im verschlossenen Folienbeutel entweder bei Raumtemperatur oder gekühlt (2-30°C) lagern. Die Testkassetten sind bis zum auf dem Folienbeutel angegebenen Verfallsdatum stabil. Die Testkassetten sollten bis zur Verwendung im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie den Test nicht ein. Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Testkits umgegangen wird.
- Den Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthalten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.
- Feuchtigkeit und Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Der NADAL® Syphilis Test kann mit Vollblut (aus der Armvene oder Fingerkuppe) Serum oder Plasma durchgeführt werden.

Gewinnung von Vollblut aus der Fingerkuppe:

Die Hand des Patienten mit Seife und warmem Wasser oder mit einem alkoholgetränkten Tupfer reinigen. Abtrocknen.

Die Hand in Richtung Fingerspitze des Mittel- oder Ringfingers durch Rubbeln massieren ohne die vorgesehene Einstichstelle zu berühren.

Die Haut mit einer sterilen Lanzette punktieren. Den ersten Blutropfen wegwischen.

Vorsichtig die Hand vom Handgelenk über die Handfläche bis zum Finger hin rubbeln, um die Bildung eines Blutropfens an der Einstichstelle zu bewirken.

Probe des Vollblutes aus der Fingerkuppe mit Hilfe eines **Kapillarröhrchens** auf die Testkassette geben:

- Mit dem Ende des Kapillarröhrchens das ausgetretene Blut berühren bis etwa 50 µl aufgesaugt sind. Luftblasen vermeiden.
- Auf das obere Ende des Kapillarröhrchens ein Saugbällchen aufsetzen und durch Zusammendrücken des Saugbällchens die Blutprobe auf die Probenvertiefung (S) der Testkassette geben.

Vollblutprobe aus der Fingerkuppe durch einen **hängenden Tropfen** auf die Testkassette geben:

- Den Finger des Patienten so halten, dass sich der Blutropfen genau über der Probenvertiefung (S) der Testkassette befindet.
- Zwei hängende Tropfen Vollblut aus der Fingerkuppe in die Probenvertiefung (S) der Testkassette geben oder den Finger des Patienten so führen, dass der hängende Tropfen die Probenvertiefung (S) berührt. Nicht mit dem Finger die Probenvertiefung (S) direkt berühren.

Gewinnung von Vollblut durch Venenpunktion

Entnehmen Sie Vollblut durch Venenpunktion gemäß dem regulären Verfahren.

Gewinnung von Serum und Plasma

Serum oder Plasma so bald wie möglich durch Zentrifugation aus dem Blut abtrennen, um Hämolyse zu vermeiden. Nur klare, nicht-hämolyisierte Proben verwenden.

Lagerung und Haltbarkeit

Der Test sollte sofort nach der Probengewinnung durchgeführt werden. Die Proben nicht längere Zeit bei Raumtemperatur aufbewahren. Serum- und Plasmaproben können bei 2-8°C bis zu 3 Tage aufbewahrt werden. Für eine längere Aufbewahrung Proben bei unter -20°C lagern.

Durch Venenpunktur gesammeltes Vollblut kann bei 2-8°C bis zu 2 Tagen vor der Testdurchführung aufbewahrt werden. Vollblut nicht einfrieren.

Vollblut aus der Fingerkuppe sollte sofort untersucht werden. Die Proben vor der Testdurchführung Raumtemperatur erreichen lassen. Eingefrorene Proben sollten vor der Testdurchführung vollständig aufgetaut sein und gemischt werden. Proben sollten nicht mehrfach aufgetaut und eingefroren werden.

Wenn die Proben verschickt werden sollen, sind diese gemäß den lokalen Vorschriften bzgl. des Transports von krankheits-erregenden Agenzien zu verpacken.

9. Testdurchführung

Vor der Testdurchführung Testkassetten, Proben und Puffer Raumtemperatur (15-30°C) erreichen lassen.

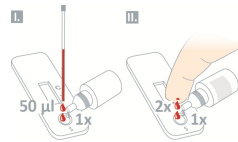
Den Folienbeutel vor dem Öffnen auf Raumtemperatur bringen. Die Testkassette aus dem verschlossenen Beutel entnehmen und baldmöglichst verwenden.

Die Testkassette auf eine saubere und ebene Oberfläche legen.

1a) Vollblutproben (Fingerkuppe):

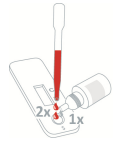
- Kapillarröhrchen benutzen:** Kapillarröhrchen mit Vollblut aus der Fingerkuppe vollständig füllen und in die Probenvertiefung (S) der Testkassette geben (ca. 50 µl), dann 1 Tropfen Puffer (ca. 40 µl) hinzufügen, die Stoppuhr starten.

- Hängende Tropfen benutzen:** Zwei hängende Tropfen Vollblut aus der Fingerkuppe (ungefähr 50 µl) in die Probenvertiefung (S) der Testkassette geben dann 1 Tropfen Puffer (ungefähr 40 µl) hinzufügen und die Stoppuhr starten.



1b) Vollblutproben (Vene):

- Die Probenpipette senkrecht halten und 2 Tropfen Vollblut (ungefähr 50 µl) in die Probenvertiefung (S) der Testkassette geben, dann 1 Tropfen Puffer (ungefähr 40 µl) hinzufügen und die Stoppuhr starten.



1c) Serum oder Plasma Proben:

- Die Probenpipette senkrecht halten und 3 Tropfen Serum oder Plasma (ungefähr 75 µl) in die Probenvertiefung der Testkassette geben und dann die Stoppuhr starten.



- Warten bis zum Erscheinen der farbigen Linie(n). Das Ergebnis sollte nach 10 Minuten abgelesen werden. Ergebnis nicht nach mehr als 30 Minuten auswerten.



10. Testauswertung

Positiv:

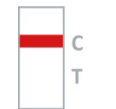
Zwei farbige Linien erscheinen. Eine Linie sollte sich im Kontroll-linienbereich (C) und eine weitere Linie im Testlinienbereich (T) befinden.



Hinweis: Die Intensität der farbigen Linie im Testlinienbereich (T) kann, je nach der in der Probe vorliegenden *T. pallidum*-Antikörperkonzentration, variieren. Deshalb sollte jede schwache Färbung im Testbereich (T) positiv bewertet werden.

Negativ:

Eine farbige Linie wird im Kontrolllinienbereich (C) sichtbar. Im Testlinienbereich (T) ist keine Linie sichtbar.



Ungültig:

Das Nichtvorhandensein einer Kontrolllinie weist auf ein Fehlschlagen des Testverfahrens hin. Die Untersuchung sollte mit einem neuen Test wiederholt werden.



Hinweis: Unzureichendes Probenvolumen oder inkorrekte Verfahrenstechniken sind die wahrscheinlichsten Gründe für das Ausbleiben der Kontrolllinie. Verfahrensablauf überprüfen und den Test mit einer neuen Testkassette durchführen. Falls das Problem weiterbesteht, die Charge ab sofort nicht weiterverwenden und sich mit Ihrem Distributor in Verbindung setzen.

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine 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.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Syphilis Test ist nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch bestimmt.
- Der NADAL® Syphilis Test dient nur zum Nachweis von *T. pallidum*-Antikörpern in Vollblut-, Serum- oder Plasma-Proben. Es kann weder ein quantitativer Wert noch ein Anstieg der *T. pallidum*-Antigenkonzentration bei diesem qualitativen Test bestimmt werden.
- Der NADAL® Syphilis Test zeigt nur das Auftreten von *T. pallidum*-Antikörpern in der Probe und sollte nicht das einzige Kriterium bei der Diagnose einer *T. pallidum*-Infektion sein.
- Wie bei allen diagnostischen Tests müssen alle Ergebnisse, die dem Arzt zur Verfügung stehen, zusammen mit anderen klinischen Informationen ausgewertet werden.
- Sollte das Testergebnis negativ ausfallen, klinische Symptome aber weiterhin bestehen, sind weitere Tests mit anderen klinischen Methoden angeraten. Ein negatives Ergebnis schließt zu keiner Zeit die Möglichkeit einer *T. pallidum*-Infektion aus.

13. Leistungsmerkmale des Tests

Erwartete Werte

Der NADAL® Syphilis Test wurde mit einem führenden kommerziell erhältlichen TPHA-Syphilis-Test verglichen und zeigte eine Gesamtgenauigkeit von 99,7% an.

Klinische Sensitivität, Spezifität und Richtigkeit

Der NADAL® Syphilis Test hat Proben eines Panels nach Serokonversion korrekt identifiziert und wurde unter Verwendung klinischer Proben mit einem führenden kommerziell erhältlichen TPHA-Syphilis-Test verglichen. Das Ergebnis zeigte eine relative Sensitivität des NADAL® Syphilis-Tests von 99,7% und eine relative Spezifität von 99,6% an.

NADAL® Syphilis Test vs. TPHA

		TPHA		
		Positiv	Negativ	Total
NADAL® Syphilis Test	Positiv	384	2	386
	Negativ	1	493	494
	Total	385	495	880

Relative Sensitivität: 99,7% (98,6-100,0%)*

Relative Spezifität: 99,6% (98,6-100,0%)*

Richtigkeit: 99,7% (99,0%-99,9%)*

* 95% Vertrauensintervall

Genauigkeit

Intra-Assay

Die Testgenauigkeit wurde mit vier Proben (negativ, schwach-positiv, mittel-positiv und stark-positiv) 10-fach untersucht: Die negativen, schwach-positiven, mittel-positiven und stark-positiven Werte wurden zu >99% richtig ausgewiesen.

Inter-Assay

Die Testgenauigkeit zwischen den Tests wurde mit den vier gleichen Proben (negativ, schwach-positiv, mittel-positiv und stark-positiv) mit 10 unabhängigen Assays bestimmt. Drei verschiedene Chargen des NADAL® Syphilis Tests wurden über einen Zeitraum von 3 Tagen mit negativen, schwach-positiven, mittel-positiven und stark-positiven Proben untersucht. Diese Proben wurden zu >99% richtig ausgewiesen.

14. Referenzen

1. Claire M. Fraser. Complete genome sequence of *Treponema Pallidum*, the syphilis spirochete, *Science* 1998; 281 July: 375-381.
2. Center for Disease Control. Recommendations for diagnosing and treating syphilis in HIV-infected patients, *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* 1988; 37: 601
3. Aral R. Marx. Crack, sex and STD, *Sexually Transmitted Diseases*, 1991; 18:92-101
4. J.N. Wasserheit. Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases, *Sexually Transmitted Diseases* 1992; 19:61-77
5. Johnson Phillip C. Testing for Syphilis, *Dermatologic Clinic* 1994; 12 Jan: 9-17.

Rev. 1, 2015-07-17 OM

1. Intended Use

The NADAL® Syphilis test is a rapid chromatographic immunoassay for the qualitative detection of antibodies (IgG and IgM) to *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) in whole blood, serum or plasma to aid in the diagnosis of Syphilis.

2. Introduction and Clinical Significance

Treponema pallidum (*T. pallidum*) is the causative agent of the venereal disease Syphilis. *T. pallidum* is a spirochete bacterium with an outer cell wall and a cytoplasmic membrane.¹

Relatively little is known about the organism in comparison with other bacterial pathogens. According to the Center for Disease Control (CDC), the number of cases of Syphilis infection has increased significantly since 1985.² Some key factors that have contributed to this rise include the crack cocaine epidemic and the high incidence of prostitution among drug users.³ One study reported a substantial epidemiological correlation between the acquisition and transmission of the HIV virus and Syphilis.⁴

Multiple clinical stages and long periods of latent, asymptomatic infection are characteristic of Syphilis. Primary Syphilis is defined by the presence of a chancre. The antibodies response to the *T. pallidum* bacterium can be detected within 4 to 7 days after the chancre appears. The infection remains detectable until the patient receives adequate treatment.⁵

The NADAL® Syphilis test utilises a double antigen combination of a Syphilis antigen coated particle and Syphilis antigen immobilized on membrane to detect *T. pallidum* antibodies (IgG and IgM) qualitatively and selectively in whole blood, serum or plasma.

3. Test Principle

The NADAL® Syphilis test is a qualitative membrane-based immunoassay for the detection of *T. pallidum* antibodies (IgG and IgM) in whole blood, serum or plasma. In the test procedure, recombinant Syphilis antigen is immobilised in the test line region of the test cassette.

After the specimen is added to the specimen well of the test cassette, it reacts with Syphilis antigen coated particles. The mixture migrates chromatographically along the test cassette and interacts with the immobilised Syphilis antigen. The double antigen test format can detect both IgG and IgM in specimens. If the specimen contains *T. pallidum* antibodies, a coloured line will develop in the test line region, indicating a positive result. If the specimen does not contain *T. pallidum* antibodies, no line will develop in the test line region, indicating a negative result. A coloured line should always develop in the control line region. It serves as an internal test control and as verification that sufficient volume of specimen has been added and proper membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 20 NADAL® Syphilis test cassettes
- 20 disposable pipettes
- 1 Buffer (only for whole blood)
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

- Specimen collection containers

- Lancets (only for fingerstick whole blood)
- Heparinised capillary tubes and dispensing bulb (only for fingerstick whole blood)
- Centrifuge
- Timer

6. Storage & Stability

Store the test as packaged in the sealed foil pouch either at room temperature or refrigerated (2-30°C). The test cassette is stable up to the expiry date printed on the sealed foil pouch. The test must remain in the sealed foil pouch until use. Do not freeze the test. Do not use the test beyond the expiration date indicated on the package.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the package.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens or test kits are being handled.
- Do not use the test if the foil pouch is damaged.
- 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.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Used testing materials should be discarded according to local regulations.
- Humidity and temperature can adversely affect test results.

8. Specimen Collection, Preparation and Storage

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

Collection of fingerstick whole blood:

Wash the patient's hand with soap and warm water or clean with an alcohol swab. Allow to dry.

Massage the hand without touching the puncture site by rubbing down the hand towards the fingertip of the middle or ring finger.

Puncture the skin with a sterile lancet. Wipe away the first sign of blood.

Gently rub the hand from wrist to palm to finger to form a rounded drop of blood over the puncture site.

Add the fingerstick whole blood specimen to the test cassette using a **capillary tube**:

- Place the end of the capillary tube to the blood until it is filled to approximately 50 µL. Avoid air bubbles.
- Attach the bulb onto the top end of the capillary tube, then squeeze the bulb to dispense the whole blood to the specimen well (S) of the test cassette.

Add the fingerstick whole blood specimen to the test using **hanging drops**:

- Position the patient's finger so that the drop of blood is right above the specimen well (S) of the test cassette.
- Allow 2 hanging drops of fingerstick whole blood to fall into the center of the specimen well (S) on the test cassette, or move the patient's finger so that the hanging drops touch

the center of the specimen well (S). Avoid direct finger contact with the specimen well (S).

Whole blood collection by venipuncture

Collect whole blood by venipuncture following the standard procedure.

Collection of serum and plasma

Separate serum or plasma from blood by centrifugation as soon as possible to avoid hemolysis. Use only clear non-hemolysed specimens.

Storage

Perform the test immediately after specimen collection. Do not leave the specimens at room temperature for prolonged periods. Serum and plasma specimens may be stored at 2-8°C for up to 3 days. For long term storage, specimens should be kept below -20°C. Whole blood collected by venipuncture should be stored at 2-8°C if the test is to be run within 2 days of collection. Do not freeze whole blood specimens. Whole blood collected by fingerstick should be tested immediately. Bring specimens to room temperature prior to testing. Frozen specimens must 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 local regulations covering the transportation of etiologic agents.

9. Test Procedure

Allow the test cassettes, specimens and buffer to reach room temperature (15-30°C) prior to testing.

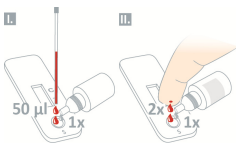
Bring the pouch to room temperature before opening it. Remove the test cassette from the sealed pouch and use it as soon as possible.

Place the test cassette on a clean and level surface.

1a) Fingerstick whole blood specimens:

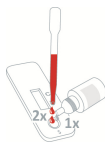
I. **To use a capillary tube:** Fill the capillary tube and transfer approximately 50 µL of fingerstick whole blood to the specimen well (S) of the test cassette, then add 1 drop of buffer (approximately 40 µL) and start the timer.

II. **To use hanging drops:** Allow 2 hanging drops of fingerstick whole blood (approximately 50 µL) to fall into the specimen well (S) of test cassette, then add 1 drop of buffer (approximately 40 µL) and start the timer.



1b) Venipuncture whole blood specimens:

Hold the dropper vertically and transfer 2 drops of whole blood (approximately 50 µL) to the specimen well (S), then add 1 drop of buffer (approximately 40 µL), and start the timer.



1c) Serum or plasma specimens:

Hold the dropper vertically and transfer 3 drops of serum or plasma (approximately 75 µL) to the specimen well (S) and start the timer.

- Wait for the coloured line(s) to develop. Read results at 10 minutes. Do not interpret the result after 30 minutes.



10. Result Interpretation

Positive:

Two lines develop. One coloured line should be in the control line region (C) and the other coloured line should be in the test line region (T).



Note: The intensity of the colour of the test line will vary depending on the concentration of *T. pallidum* antibodies present in the specimen. Therefore, any shade of colour of the test line should be considered positive.

Negative:

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



Invalid:

The absence of the control line (C) indicates a failure in the test procedure. The sample should be retested.



Note: Insufficient specimen volume, 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 problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your distributor.

11. Quality Control

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

12. Limitations

- The NADAL® Syphilis test is for in-vitro diagnostic use only.
- The test should only be used for the detection of *T. pallidum* antibodies in whole blood, serum or plasma specimens. Neither the quantitative value nor the rate of increase of *T. pallidum* antibodies can be determined by this qualitative test.
- The NADAL® Syphilis test only detects the presence of *T. pallidum* antibodies in the specimen and should not be used as the sole method for the diagnosis of *T. pallidum* infection.
- As with all diagnostic tests, all results should be interpreted together with other clinical information available to the physician.
- If the test result is negative and clinical symptoms persist, additional testing using other clinical methods is

recommended. A negative result does not at any time preclude the possibility of *T. pallidum* infection.

13. Performance Characteristics

Expected values

The NADAL® Syphilis test has been compared with a leading commercial TPHA Syphilis test, demonstrating an overall accuracy equal to or greater than 99.7%.

Clinical Sensitivity, Specificity and Accuracy

The NADAL® Syphilis test has correctly identified specimens of a seroconversion panel and has been compared to a leading commercial TPHA Syphilis test using clinical specimens. The results show that the relative sensitivity of the NADAL® Syphilis test is 99.7%, and the relative specificity is 99.6%.

The NADAL® Syphilis test vs. TPHA

		TPHA		
		Positive	Negative	Total
NADAL® Syphilis Test	Positive	384	2	386
	Negative	1	493	494
	Total	385	495	880

Relative sensitivity: 99.7% (98.6%-100.0%)*

Relative specificity: 99.6% (98.6%-100.0%)*

Accuracy: 99.7% (99.0%-99.9%)*

* 95% Confidence Intervals

Precision

Intra-Assay

Within-run precision has been determined by using 10 replicates of four specimens: a negative, a low positive, a medium positive and a high positive. The negative, low positive, medium positive and high positive values were correctly identified >99% of the time.

Inter-Assay

Between-run precision has been determined by 10 independent assays on the same four specimens: a negative, a low positive, a medium positive and a high positive. Three different lots of the NADAL® Syphilis test have been tested over a 3-day period using negative, low positive, medium positive and high positive specimens. The specimens were correctly identified >99% of the time.

14. References

1. Claire M. Fraser. Complete genome sequence of *Treponema Pallidum*, the Syphilis spirochete, *Science* 1998; 281 July: 375-381
2. Center for Disease Control. Recommendations for diagnosing and treating Syphilis in HIV-infected patients, *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* 1988; 37: 601
3. Aral R. Marx. Crack, sex and STD, *Sexually Transmitted Diseases*, 1991; 18:92-101
4. J.N. Wasserheit. Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases, *Sexually Transmitted Diseases* 1992; 19:61-77
5. Johnson Phillip C. Testing for Syphilis, *Dermatologic Clinic* 1994; 12 Jan: 9-17

Rev. 1, 2015-07-17 OM/FS

1. Domaine d'application

Le test NADAL® Syphilis est un test rapide par immunochromatographie pour la détection qualitative des anticorps (IgG et IgM) *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) dans le sang total, le sérum ou le plasma. Ce test est une aide au diagnostic de la syphilis.

2. Introduction et signification clinique

Le *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) est la bactérie responsable de la maladie vénérienne de la syphilis. *T. pallidum* est un spirochète, une bactérie avec une enveloppe extérieure et une membrane cytoplasmique¹.

Il y a relativement peu d'informations connues au sujet cet organisme par rapport à d'autres bactéries pathogènes. Selon le CDC, Centre de Prévention et contrôle des maladies américain (Center for Disease Control and prevention), le nombre de cas d'infection à la syphilis augmente de manière significative depuis 1985². Facteurs clés de cette aggravation, les épidémies de consommation de cocaïne et de crack ainsi que l'augmentation du taux de prostitution chez les consommateurs de drogues³. Une étude indique également que les cas de syphilis au sein des populations féminines atteintes par le VIH se sont multipliés⁴.

La syphilis est caractérisée par plusieurs états cliniques et de longues périodes d'infections asymptomatiques latentes. Le stade primaire de l'infection peut être détecté par l'apparition d'un chancre au niveau de la zone de survenance. La réaction au TP peut se dépister dans les 4 à 7 jours après l'apparition du chancre de syphilis. L'infection reste décelable jusqu'à ce que le patient bénéficie du traitement adéquat⁵.

Le test NADAL® Syphilis utilise une double combinaison de particules recouvertes d'antigène syphilis et d'antigène syphilis immobilisés sur la membrane du test pour la détection qualitative et sélective des anticorps *T. pallidum* (IgG et IgM) dans le sang total, le sérum ou le plasma.

3. Principe du test

Le test NADAL® Syphilis est un test immunologique sur membrane destiné à la détection qualitative des anticorps *T. pallidum* (IgG et IgM) dans le sang total, le sérum ou le plasma pour le diagnostic de la syphilis. Des antigènes syphilis recombinants sont fixés sur la zone de test de la casete.

Après la mise en contact de l'échantillon avec la casete, celui-ci réagit avec les particules d'antigènes syphilis du test. Le mélange migre par capillarité le long de la membrane et réagit avec les antigènes syphilis immobilisés. Les doubles antigènes peuvent détecter à la fois les IgG et les IgM. Si l'échantillon contient des anticorps *T. pallidum*, une ligne colorée apparaît au niveau de la zone de test (T) et indique un résultat positif. Si l'échantillon ne contient pas d'anticorps *T. pallidum*, aucune ligne colorée n'apparaît au niveau de la zone de test (T) et indique un résultat positif. La ligne de contrôle (C) confirme le bon fonctionnement du test. Elle indique qu'une quantité suffisante d'échantillon a été utilisée et que sa migration le long de la membrane s'est correctement effectuée.

4. Réactifs et matériel fourni

- 20 casetes NADAL® Syphilis
- 20 pipettes à usage unique

- 1 flacon de solution tampon (uniquement pour le sang total)
- 1 mode d'emploi

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Récipient pour le recueil d'échantillon
- Lancettes (pour prélèvement de sang total au doigt)
- Tubes capillaires héparinisés à usage unique (pour prélèvement de sang total au doigt)
- Centrifugeuse
- Chronomètre

6. Péréemption et conservation des réactifs

Conserver le test dans son emballage scellé, à température ambiante ou réfrigéré (2-30°C). Le test reste stable jusqu'à la date de péréemption s'il est correctement conservé dans son emballage scellé. Ne pas congeler. Ne pas utiliser au-delà de la date de péréemption.

7. Précautions et mesures de sécurité

- Réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel. Ne pas utiliser au-delà de la date de péréemption.
- Ne pas manger, fumer ou boire dans la zone où le test est effectué.
- Ne pas utiliser le test si son emballage est endommagé.
- Considérer chaque échantillon comme potentiellement infectieux. Les manipuler et procéder à leur élimination selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire et règles en vigueur.
- Utiliser des gants jetables, blouses de laboratoire et lunettes de protection lors de l'exécution du test.
- Le test doit être éliminé selon les règles locales.
- L'humidité ou la chaleur peuvent affectés les résultats du test.

8. Recueil et conservation des échantillons

Le test NADAL® Syphilis peut être utilisé sur sang total (veineux ou prélèvement au doigt), sérum ou plasma.

Prélèvement de sang total au bout du doigt

Nettoyer les mains du patient avec savon et eau chaude, ou avec une lingette imbibée d'alcool. Essuyer.

Masser la main de la base de la paume vers les doigts. Ne pas toucher la zone de prélèvement.

Piquer le bout du doigt avec une lancette stérile. Nettoyer les premières gouttes de sang.

Masser la main, du poignet vers la paume et jusqu'aux doigts, afin de former une goutte de sang au niveau de la zone de prélèvement.

Prélèvement de sang total au bout du doigt avec utilisation d'un **tube capillaire** :

- Prélever environ 50 µl d'échantillon de sang avec le tube capillaire. Eviter la formation de bulles d'air.
- A l'aide d'une poire placée à l'autre extrémité du tube capillaire, déposer le prélèvement sur le puits de dépôt (S) de la casete.

Prélèvement de sang total prélevé directement au bout du doigt en **goutte en suspens** :

- Placer le doigt du patient exactement au-dessus du puits de dépôt (S) de la casete.

- Déposer 2 gouttes de sang total sur le puits de dépôt (S) de la casete. Ne pas mettre le doigt directement en contact avec le puits de dépôt (S) de la casete.

Prélèvement de sang total par ponction veineuse

Collecter le sang total par ponction veineuse en suivant la procédure standard.

Prélèvement de sérum et de plasma

Séparer le sérum ou plasma du sang aussi vite que possible, afin d'éviter l'hémolyse. N'utiliser que des échantillons clairs et non hémolysés.

Conservation

Le test doit être effectué immédiatement après le prélèvement de l'échantillon. Ne pas conserver les échantillons à température ambiante pendant une période prolongée. Le sérum et le plasma peuvent être conservés entre 2-8°C jusqu'à 3 jours. Pour une conservation plus longue, les échantillons doivent être conservés à -20°C. Les échantillons de sang veineux doivent être conservés à 2-8°C, si le test est effectué dans les 2 jours après le prélèvement. Les échantillons de sang total ne doivent pas être congelés. Les échantillons de sang total capillaire prélevés au doigt doivent être testés immédiatement.

Amener l'échantillon à température ambiante avant d'effectuer le test. Les échantillons congelés doivent être décongelés et homogénéisés avant d'effectuer le test. Ne pas décongeler et recongeler les échantillons.

Respecter les règles sanitaires en vigueur lorsqu'un échantillon doit être transporté.

9. Exécution du test

Amener le test, l'échantillon et la solution de dilution à température ambiante (15-30°C) avant d'effectuer le test.

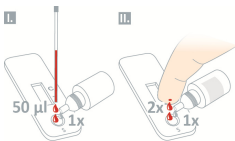
Retirer la casete de son emballage individuel et effectuer le test immédiatement.

Placer la casete sur une surface plane et propre.

1a) Sang total (bout du doigt)

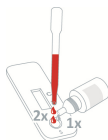
I. **Utilisation d'un tube capillaire :** remplir le tube capillaire et déposer environ 50 µl de sang total sur le puits de dépôt (S) de la casete, puis ajouter 1 goutte de solution de dilution (environ 40 µl). Enclencher le chronomètre.

II. **Goutte de sang en suspens :** Laisser tomber directement 2 gouttes de sang du bout du doigt sur le puits de dépôt (S) de la casete (environ 50 µl), puis ajouter 1 goutte de solution de dilution (environ 40 µl). Enclencher le chronomètre.



1b) Sang total veineux

Tenir la pipette à la verticale et déposer 2 gouttes de sang total (environ 50 µl) sur le puits de dépôt (S) de la casete, puis ajouter 1 goutte de solution de dilution (environ 40 µl). Enclencher le chronomètre.



1c) Échantillons de sérum ou plasma

Tenir la pipette à la verticale et déposer 3 gouttes de sérum ou de plasma (environ 75 µl) sur le puits de dépôt (S) de la casete, puis ajouter 1 goutte de solution de dilution (environ 40 µl). Enclencher le chronomètre.

2. Attendre l'apparition de la ou les ligne(s) de couleur. Lire le résultat après 10 minutes. Ne plus interpréter les résultats après 30 minutes.



10. Interprétation des résultats

Positif :

Deux lignes apparaissent. Une ligne colorée dans la zone de contrôle (C) et une ligne colorée dans la zone de test (T).



Remarque : l'intensité de la ligne dans la zone de test (T) peut varier selon la concentration en anticorps *T. pallidum* présents dans l'échantillon. Une ligne apparue au niveau de la zone de test, même de faible intensité, doit être considérée comme un résultat positif.

Négatif :

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



Non-valide :

L'absence de ligne de contrôle (C) indique une erreur dans la procédure de test. L'échantillon doit être retesté.



Remarque : Un volume insuffisant d'échantillon et une mauvaise manipulation sont les causes les plus fréquentes de résultat invalide. Relire la procédure et répéter l'analyse avec un nouveau test. Si le problème persiste, ne plus utiliser le kit et contacter votre distributeur.

11. Contrôle qualité

Une procédure de contrôle est incluse dans le test. L'apparition de la ligne colorée dans la zone de contrôle (C) est considérée comme une procédure de contrôle interne. Elle confirme qu'un volume d'échantillon suffisant a été utilisé et que que la manipulation a été suivie conformément aux indications.

12. Limites du test

- Le test NADAL® Syphilis est réservé à un usage diagnostic *in-vitro*.
- Le test est utilisé pour la détection des anticorps *T. pallidum* dans le sang total, sérum ou plasma. Ni la quantité, ni l'augmentation des anticorps *T.pallidum* ne peut être déterminé par ce test qualitatif.
- Le test NADAL® Syphilis n'indique que la présence d'anticorps *T. pallidum* dans l'échantillon et ne doit pas être utilisé comme seul méthode de diagnostic d'une infection par *T. pallidum*.
- Comme pour tout test de diagnostic, les résultats de ce test doivent être mis en corrélation avec d'autres examens

cliniques et données du patient mis à la disposition du médecin.

- Si les symptômes cliniques persistent malgré un résultat négatif, il est conseillé d'approfondir les recherches avec des examens cliniques plus poussés. Un résultat négatif n'exclut pas systématiquement une infection au par *T. pallidum*.

13. Performances du test

Valeurs attendues

Le test NADAL® Syphilis a été comparé avec un test Syphilis TPHA du commerce et présente une concordance générale de 99,7%.

Sensibilité clinique, spécificité et précision

Le test NADAL® Syphilis a correctement identifié des échantillons provenant d'un panel après séroconversion et a été soumis à un test de comparaison avec un test Syphilis TPHA, disponible dans le commerce. Les résultats indiquent une sensibilité relative du test NADAL® Syphilis de 99,7% et une spécificité relative de 99,6%.

		TPHA		
		Positif	Négatif	Total
Test NADAL® Syphilis	Positif	384	2	386
	Négatif	1	493	494
	Total	385	495	880

Sensibilité relative : 99,7% (98,6-100,0%)*

Spécificité relative : 99,6% (98,6-100,0%)*

Exactitude : 99,7% (99,0-99,9%)*

* 95% intervalle de confiance

Précision

Intra-série

La précision du test a été analysée à 10 reprises avec 4 échantillons : négatif, faiblement positif, moyennement positif et fortement positif. Les valeurs négatives, faiblement positives, moyennement positives et fortement positives ont montrés des résultats corrects > 99%.

Inter-série

La précision du test a été confirmée sur les quatre échantillons (négatif, faiblement positif, moyennement positif et fortement positif) avec 10 séries indépendantes. Trois lots différents de test NADAL® Syphilis ont été testés dans une période de trois jours avec des échantillons négatifs, faiblement positifs, moyennement positifs et fortement positifs. Ces échantillons ont montrés des résultats corrects >99%.

14. Bibliographie

1. Claire M. Fraser. Complete genome sequence of *Treponema Pallidum*, the Syphilis spirochete, *Science* 1998; 281 July: 375-381
2. Center for Disease Control. Recommendations for diagnosing and treating Syphilis in HIV-infected patients, *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* 1988; 37: 601
3. Aral R. Marx. Crack, sex and STD, *Sexually Transmitted Diseases*, 1991; 18:92-101
4. J.N. Wasserheit. Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases, *Sexually Transmitted Diseases* 1992; 19:61-77
5. Johnson Phillip C. Testing for Syphilis, *Dermatologic Clinic* 1994; 12 Jan: 9-17

Rev. 1, 2015-07-17 AS

1. Uso previsto

El test NADAL® Sífilis es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos (IgG e IgM) contra *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) en sangre total, suero o plasma para facilitar del diagnóstico de sífilis.

2. Introducción y significado clínico

Treponema pallidum (*T. pallidum*) es un agente que causa la enfermedad venérea sífilis. *T. Pallidum* es una bacteria espiroqueta con una cubierta exterior y una membrana citoplasmática¹. En comparación con otras bacterias patógenas, se sabe relativamente poco sobre este organismo. De acuerdo con el Centro de Control de Enfermedades (CDC), el número de casos de infecciones por sífilis ha incrementado considerablemente desde 1985². Algunos factores claves que han contribuido a este incremento incluyen la adición al crack y la cocaína, así como la gran incidencia de la prostitución entre los drogadictos³. Un estudio reportó que un gran número de mujeres infectadas por VIH mostraron resultados positivos en las pruebas serológicas de Sífilis⁴.

Dentro de las características de la sífilis se encuentran: múltiples etapas clínicas, largos periodos latentes e infección asintomática. La primera etapa de la infección se define por la presencia de un chancro en el sitio de inoculación. El anticuerpo responde a la bacteria *T. pallidum*, la cual puede detectarse de 4 a 7 días después de la aparición del chancro. La infección permanece detectable hasta que el paciente recibe un tratamiento adecuado⁵.

El test NADAL® Sífilis utiliza una doble combinación de antígeno de sífilis: un antígeno de sífilis cubierto con partículas y un antígeno de sífilis inmovilizado sobre membrana para detectar anticuerpos *T. pallidum* (IgG e IgM) cualitativa y selectivamente en sangre total, suero o plasma.

3. Principio del test

El test NADAL® Sífilis es un inmunoensayo cualitativo para la detección rápida de anticuerpos *T. pallidum* (IgG e IgM) en sangre completa, suero o plasma.

Cuando se añade la muestra del paciente al test casete, esta reacciona con las partículas de antígenos de sífilis que cubren la membrana. Dicha mezcla migra cromatográficamente e interacciona con los antígenos recombinantes de sífilis inmovilizados en el área de test de la tira. El formato de doble antígeno del test permite detectar ambos anticuerpos IgG e IgM en la muestra. Si esta contiene anticuerpos *T. pallidum*, aparecerá una línea de color en el área de test de la tira indicando, así, un resultado positivo de la prueba. Si, por el contrario, la muestra no contiene anticuerpos *T. pallidum*, no aparecerá ninguna línea en el área de test, indicando un resultado negativo. El test también cuenta con un control interno (área C) que deberá mostrar en todo caso una línea de color indicando que el volumen de muestra aplicado es el adecuado y que la membrana la ha absorbido correctamente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 20 test NADAL® Sífilis en formato casete
- 20 pipetas desechables
- 1 botella de búmer o amortiguador
- 1 instrucciones de uso

5. Otros materiales necesarios

- Frascos de recogida de muestras
- Lancetas (solo para sangre completa obtenida por punción dactilar)
- Tubos capilares heparinizados y peras (solo para sangre completa obtenida por punción dactilar)
- Centrifugadora
- Temporizador

6. Almacenamiento y conservación

Almacene los test a temperatura ambiente (2-30°C) o en el refrigerador y no los saque de su envoltorio hasta el momento de su uso. No congele los test. No los utilice tras la fecha de caducidad impresa en su envoltorio.

7. Advertencias y precauciones

- Sólo para diagnóstico profesional *in-vitro*.
- No utilice los test tras la fecha de caducidad impresa en su envoltorio.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras o kits.
- No utilice el test si el envoltorio está dañado.
- Manipule las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Tenga en cuenta las precauciones y normativas locales establecidas a la hora de manipular y desechar las muestras y reactivos.
- Utilice ropa protectora, como batas de laboratorio, guantes desechables y protector de ojos cuando realice las pruebas.
- Deseche los test usados de acuerdo con la normativa local vigente.
- La humedad y la temperatura pueden afectar a los resultados.

8. Toma de muestras y preparación

El test NADAL® Sífilis puede realizarse con sangre completa (obtenida por punción venosa o dactilar), suero o plasma.

Obtención de sangre completa por punción dactilar:

Lave la mano del paciente con agua caliente y jabón o desinféctela con un algodón empapado en alcohol. Seque la zona.

Masajee la mano en dirección al dedo corazón o anular pero sin tocar el área de punción.

Pinche la yema con una lanceta estéril. Limpie las primeras gotas de sangre.

Masajee la mano desde la muñeca hasta la palma para conseguir una cantidad de sangre suficiente.

Aplique la muestra de sangre en la tira de test con la ayuda de un **tubo capilar**:

- Ponga el extremo del tubo capilar en contacto con la muestra obtenida hasta que contenga 50 µl de sangre. Evite las burbujas de aire.
- Coloque la pera en el otro extremo del tubo capilar y presiónela para dispensar la muestra sobre la almohadilla de la tira de test.

También puede aplicar la muestra tomándola directamente de la **mano**:

- Coloque el dedo del paciente de tal forma que la gota de sangre quede justo por encima de la almohadilla de muestra de la prueba.
- Coloque dos gotas de sangre en la almohadilla de muestra del test o mueva el dedo del paciente de forma que la gota toque la almohadilla de muestra, evitando que el dedo la toque directamente.

Obtención de sangre completa por punción venosa:

Recoja la muestra de sangre completa siguiendo el procedimiento estándar.

Obtención de suero o plasma:

Separe el suero o plasma tan pronto como sea posible para evitar hemólisis. Utilice únicamente muestras no hemolizadas.

Almacenaje de la muestra

Realice el test inmediatamente después de recoger la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante largos períodos de tiempo. Almacene las muestras de suero y plasma a 2-8°C durante un máximo de 3 días. Si tiene que almacenarlas durante un mayor período de tiempo, congélelas a -20°C. Las muestras de sangre completa obtenidas por punción venosa pueden almacenarse a 2-8°C durante 2 días, aunque no debe congelarlas. Las muestras de sangre por punción dactilar deben testarse inmediatamente.

Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar el test. En caso de estar congeladas, descongélelas y mézclelas bien antes de realizar el test. No vuelva a congelar las muestras una vez descongeladas.

Si tiene que transportar las muestras, empaquételas según las regulaciones locales para el transporte de agentes etiológicos.

9. Procedimiento del test

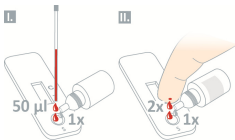
Lleve los test casete, muestras y búfer a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar el análisis.

Saque el test de su envoltorio y utilícelo tan pronto como sea posible.

Coloque el dispositivo sobre una superficie limpia y plana.

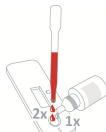
1a) Muestras de sangre completa dactilar:

- Utilizando el tubo capilar:** llene el tubo capilar y transfiera aproximadamente 50 µl de sangre completa obtenida por punción dactilar en el pocillo de muestra (S). A continuación, añada 1 gota de búfer (aproximadamente 40 µl) y active el temporizador.
- Utilizando la mano:** Introduzca 2 gotas de sangre completa directamente de la mano (aproximadamente 50 µl) en el pocillo de muestra (S) del test casete. A continuación, añada 1 gota de búfer (aproximadamente 40 µl) y active el temporizador.



1b) Muestras de sangre completa venosa:

Sujete la pipeta verticalmente y transfiera 2 gotas de sangre completa (aproximadamente 50 µl)



en el pocillo de muestra (S) del test casete. A continuación, añada 1 gota de búfer (aproximadamente 40 µl) y active el temporizador.

1c) Muestras de suero o plasma:

Sujete la pipeta verticalmente y transfiera 3 gotas de suero o plasma (aproximadamente 75 µl) en el pocillo de muestra (S) del test casete y active el temporizador.

2. Espere a que aparezca una o varias líneas en las áreas de test y/o control. Lea los resultados tras 10 minutos; no los interprete pasados 30 minutos.



10. Interpretación de resultados

Positivo

Aparecen 2 líneas, una en el área de control (C) y la otra en el área de test (T). Una línea roja en la región T indica que la muestra contiene anticuerpos de sífilis.



Nota: la intensidad de la línea puede variar de rosa claro a granate intenso dependiendo de la concentración de anticuerpos *T. pallidum*. Es por ello que, cualquier indicio de color indicará un resultado positivo de la muestra.

Negativo

Solo aparece una línea (C) en el área de control C. La ausencia de la línea del test (T) indica que no se han detectado anticuerpos *T. pallidum*.



No válido

La ausencia de la línea de control (C) indica un resultado no válido. En este caso, deberá realizar un nuevo análisis de la muestra.



Nota: Un volumen de muestra insuficiente o un error en el procedimiento son las principales causas de ausencia de la línea de control (C). Revise el procedimiento de prueba y repita el análisis con un nuevo dispositivo. Si el problema persiste, no utilice más test y contacte con su proveedor.

11. Control de calidad

La aparición de una línea en la zona de control (C) funciona como control interno del test. Esta, confirma que el volumen de muestra aplicado es suficiente, que la absorción de la membrana es la adecuada y que el procedimiento de test se ha realizado correctamente.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Sífilis está diseñado únicamente para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Utilice el test únicamente para detectar anticuerpos *T. pallidum* en muestras de sangre completa, suero o plasma. No se pueden determinar ni los valores cuantitativos ni el incremento porcentual de anticuerpos *T. pallidum* mediante la realización de esta prueba cualitativa.

- El test NADAL® Sifilis tan solo indica la presencia de anticuerpos *T. Pallidium* en la muestra y no debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico de infección por *T. pallidium*.
- Como todas las pruebas de diagnóstico, los resultados debe interpretar los resultados del test junto con la información clínica disponible.
- Si el resultado de la prueba resulta negativo pero los síntomas clínicos persisten, debe realizar pruebas adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por *T. pallidium*.

2. Center for Disease Control. Recommendations for diagnosing and treating syphilis in HIV-infected patients, MMWR Morb. Mortal Wkly Rep. 1988; 37: 601
3. Aral R. Marx. Crack, sex and STD, Sexually Transmitted Diseases, 1991; 18:92-101
4. J.N. Wasserheit. Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases, Sexually Transmitted Diseases 1992; 19:61-77
5. Johnson Phillip C. Testing for Syphilis, Dermatologic Clinic 1994; 12 Jan: 9-17.

Rev. 1, 2015-07-17 IA

13. Características de rendimiento

Valores esperados

El test NADAL® Sifilis se ha comparado con otro test comercial de TPHA Sifilis, mostrando una precisión igual o mayor al 99,7%.

Sensitividad, especificidad y precisión clínica

El test NADAL® Sifilis identificó correctamente muestras de un panel de seroconversión y se comparó con un test comercial de TPHA Sifilis utilizando maestra clínicas. Los resultados mostraron que la sensibilidad relativa del test NADAL® Sifilis es del 99,6%.

El test NADAL® Sifilis vs. TPHA

		TPHA		
		Positivo	Negativo	Total
Test NADAL® Sifilis	Positivo	384	2	386
	Negativo	1	493	494
	Total	385	495	880

Sensitividad relativa: 99,7% (98,6-100,0%)*

Especificidad relativa: 99,6% (98,6-100%)*

Exactitud: 99,7% (99,0%-99,9%)*

* 95% Intervalo de confianza

Precisión

Intraensayo

La precisión dentro de una misma serie se determinó mediante el uso de 10 réplicas de cuatro muestras: una negativa, una positiva con baja concentración, una positiva de concentración media y una positiva con alta concentración de antígenos *T. pallidium*. Las cuatro muestras fueron identificadas correctamente en un >99% de las veces.

Interensayo

La precisión entre distintas series se determinó mediante el uso de 10 réplicas de cuatro muestras: una negativa, una positiva con baja concentración, una positiva de concentración media y una positiva con alta concentración de antígenos *T. pallidium*. Se testaron test de 3 lotes diferentes de NADAL® Sifilis durante un período de 3 días utilizando muestras negativas, una positivas con baja concentración, positivas de concentración media y positivas con alta concentración. Las muestras se identificaron correctamente en un >99% de las veces.

14. Referencias

1. Claire M. Fraser. Complete genome sequence of *Treponema Pallidum*, the syphilis spirochete, Science 1998; 281 July: 375-381.

1. Scopo del test

Il test NADAL® Sifilide è un immunodosaggio cromatografico per l'individuazione qualitativa degli anticorpi (IgG e IgM) per il *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) in sangue intero, siero o plasma come aiuto alla diagnosi della sifilide.

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.¹

Si conosce ancora poco riguardo a tale organismo rispetto ad altri agenti patogeni. Stando alle informazioni fornite dal Centro di controllo delle Malattie (Center for Disease Control-CDC), il numero di casi di infezioni da sifilide è aumentato in maniera significativa dal 1985.² Tra i fattori principali che hanno contribuito a questo aumento, l'invasione del crack e della cocaina ed i numerosi casi di prostituzione tra i consumatori di droghe.³ Alcuni studi hanno mostrato una sostanziale correlazione epidemiologica tra l'acquisizione e la trasmissione del virus dell'HIV e la sifilide.⁴

Molteplici fasi cliniche e lunghi periodi di infezioni latenti ed asintomatiche sono caratteristici della sifilide. Una sifilide allo stato primario viene definita in presenza di un sifiloma. La risposta degli anticorpi al batterio *T. pallidum* può essere individuata tra i 4 ed i 7 giorni dopo la comparsa del sifiloma. L'infezione resta percettibile fin quando il paziente non riceve il trattamento adeguato.⁵

Il test NADAL® Sifilide utilizza una doppia combinazione di antigeni, particelle rivestite da antigeni della sifilide ed antigeni immobilizzati su membrana per l'individuazione qualitativa e selettiva degli anticorpi (IgG e IgM) per il *T. pallidum* in sangue intero, siero o plasma.

3. Principio del Test

Il test NADAL® Sifilide è un immunodosaggio qualitativo su membrana per l'individuazione degli anticorpi (IgG e IgM) del *T. pallidum* in sangue intero, siero o plasma. Secondo la procedura del test, l'antigene ricombinante della sifilide è immobilizzato nella regione corrispondente alla linea del test sul dispositivo a cassetta.

Dopo che il campione viene aggiunto al pozzetto di raccolta del test a cassetta, questo reagisce con le particelle rivestite con gli antigeni della sifilide. Il composto si muove cromatograficamente lungo il test a cassetta e reagisce con gli antigeni della sifilide immobilizzati. La tipologia doppio antigene del test, permette di individuare sia gli IgG che gli IgM nel campione analizzato. Se il campione contiene gli anticorpi del batterio *T. pallidum*, si svilupperà una linea colorata nell'area della linea del test indicando un risultato positivo. Se il campione invece non contiene gli anticorpi del *T. pallidum*, non comparirà nessuna linea nell'area della linea del test indicando un risultato negativo. Una linea colorata, al contrario, dovrebbe sempre comparire nella zona della linea di controllo. Questa serve come controllo procedurale interno e come verifica del fatto che è stato utilizzato il volume sufficiente di campione e la migrazione sulla membrana è avvenuta correttamente.

4. Reagenti e Materiali Forniti

- 20 test a cassetta NADAL® Sifilide
- 20 pipette monouso
- 1 Tampone (solo per sangue intero)
- 1 Istruzioni per l'uso

5. Ulteriori materiali richiesti

- Contenitori di raccolta del campione
- Bisturi (solo in caso di prelievo di sangue intero dal polpastrello)
- Tubi capillari eparinizzati e pompetta con dosatore (solo in caso di prelievo di sangue intero dal polpastrello)
- Centrifuga
- Timer

6. Conservazione e Stabilità

Conservare nella confezione di vendita a temperatura ambiente o in frigorifero (2-30°C). Il test rimane stabile fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. Conservare nella sua confezione fino all'utilizzo del test. Non congelare. Non utilizzare oltre la data di scadenza.

7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Non utilizzare oltre la data di scadenza.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Non utilizzare se la confezione è danneggiata.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le dovute precauzioni durante lo svolgimento dell'intera procedura al fine di evitare danni microbiologici. Seguire le procedure standard per lo smaltimento dei campioni.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Smaltire i test usati nel rispetto delle regolamentazioni locali.
- Umidità o temperature elevate possono influenzare in maniera negativa i risultati del test.

8. Raccolta del campione, preparazione e conservazione

Il test NADAL® Sifilide può essere svolto utilizzando campioni di sangue intero (prelievo venoso o incisione del polpastrello), siero o plasma.

Raccolta di sangue intero attraverso incisione del polpastrello:

Lavare la mano del paziente con sapone ed acqua calda oppure pulire con un tampone imbevuto di alcohol. Fare asciugare.

Massaggiare la mano senza toccare l'area da incidere mediante sfregamento del dito medio o anulare.

Incidere con un bisturi sterile. Rimuovere la prima comparsa di sangue.

Sfregare lievemente la mano dal polso attraverso il palmo fino al dito per favorire la fuoriuscita di una goccia di sangue in corrispondenza dell'area incisa.

Aggiungere il campione di sangue intero prelevato al test a cassetta utilizzando un **tubo capillare**:

- Posizionare il tubicino a contatto con il sangue fino a riempirlo con circa 50 µL di campione. Evitare la formazione di bollicine d'aria.
- Attaccare la pompetta sull'estremità superiore del tubicino e premere per versare il campione di sangue intero prelevato nel pozzetto di raccolta (S) del dispositivo a cassetta.

Aggiungere il campione di sangue intero prelevato dal polpastrello facendolo **cadere direttamente dal dito del paziente**:

- Posizionare il dito del paziente in modo tale che la goccia di sangue cada esattamente in corrispondenza del pozzetto di raccolta (S) del test a cassetta.
- Fare cadere due gocce di sangue direttamente al centro del pozzetto di raccolta (S) del test a cassetta, o spostare il dito del paziente in modo tale che le gocce tocchino il centro del pozzetto di raccolta del campione (S). Evitare il contatto diretto con il pozzetto di raccolta del campione (S).

Raccolta del campione di sangue intero mediante prelievo venoso:

Raccogliere il campione di sangue intero mediante prelievo venoso seguendo le procedure standard.

Raccolta del campione di siero e plasma

Separare immediatamente il siero o il plasma dal sangue mediante centrifugazione al fine di evitare il rischio di emolisi. Utilizzare esclusivamente campioni limpidi non emolizzati.

Conservazione

Eseguire il test immediatamente dopo aver raccolto il campione. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per periodi di tempo prolungati. Si consiglia di conservare i campioni di siero e plasma a 2-8°C fino ad un massimo di 3 giorni. Per periodi di conservazione più lunghi i campioni dovrebbero essere conservati a -20°C. I campioni di sangue intero raccolti attraverso prelievo venoso vanno conservati a 2-8°C nel caso in cui il test venga svolto entro 2 giorni dalla raccolta del campione. Non congelare i campioni di sangue intero. I campioni raccolti attraverso puntura del polpastrello andrebbero testati immediatamente.

Portare i campioni a temperatura ambiente prima di eseguire i test. I campioni congelati vanno fatti scongelare completamente e mescolati adeguatamente prima di eseguire il test. Evitare di ripetere processi di congelamento e scongelamento. Nel caso in cui i campioni vadano spediti, si consiglia di confezionarli nel rispetto delle regolamentazioni locali relative al trasporto di agenti eziologici.

9. Procedura del Test

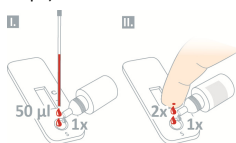
Portare il test a cassetta ed i tamponi a temperatura ambiente (15-30°C) prima di eseguire il test.

Portare la confezione a temperatura ambiente prima di aprirla. Rimuovere il test a cassetta dalla confezione ed utilizzarlo nel più breve tempo possibile.

Adagiare il test su una superficie piana e pulita.

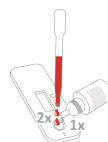
1a) Campioni di sangue intero raccolti tramite puntura del polpastrello:

- Utilizzo di un tubo capillare:** riempire il tubo capillare e trasferire circa 50 µL del campione di sangue raccolto nel pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta, aggiungere 1 goccia di soluzione tampone (circa 40 µL) ed avviare il timer.
- Utilizzo diretto delle gocce di sangue:** far scendere 2 gocce di sangue intero (circa 50 µL) direttamente nel pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta, aggiungere poi una goccia di soluzione tampone (circa 40 µL) ed avviare il timer.



1b) Campione di sangue intero raccolto attraverso prelievo venoso:

mantenere il contagocce in posizione verticale e versare 2 gocce di sangue intero (circa 50 µL) nel pozzetto di raccolta del campione (S), aggiungere, poi, 1 goccia di soluzione tampone (circa 40 µL) ed avviare il timer.



1c) Campioni di siero o plasma:

mantenere il contagocce verticalmente, trasferire 3 gocce di siero o plasma (circa 75 µL) al pozzetto di raccolta del campione (S) ed avviare il timer.



- Aspettare che la/e linee colorate si sviluppino. Leggere i risultati dopo 10 minuti. Non interpretare i risultati dopo 30 minuti.



10. Interpretazione dei Risultati

Positivo:

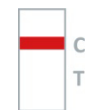
Si sviluppano due linee. Una linea colorata nella zona di controllo (C) ed un'altra linea colorata nella zona del test (T).



Nota bene: L'intensità di colore della linea del test varia a seconda della concentrazione degli anticorpi del *T. pallidum* presenti nel campione. Per questo motivo qualsiasi sfumatura della linea del test dovrebbe indurre a considerare il test positivo.

Negativo:

Una sola linea colorata compare nella zona di controllo (C). Non si sviluppa alcuna linea nella zona (T) del test.



Non valido:

L'assenza della linea di controllo (C) indica un errore nella procedura del



test. Il campione dovrebbe essere testato nuovamente.

Nota Bene: Un volume insufficiente di campione e tecniche procedurali scorrette sono tra le ragioni principali per il verificarsi di errori nella comparsa della linea di controllo. Si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo dispositivo a cassetta. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.

11. Controllo qualità

Un controllo procedurale interno è incluso nella confezione. Una linea colorata nella zona di controllo (C) è da considerarsi come un controllo procedurale interno. Ciò conferma che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione, la migrazione lungo la membrana è avvenuta correttamente e la procedura tecnica è stata svolta nel modo giusto.

12. Limiti del Test

- Utilizzare il test NADAL® Sifilide esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Il test va utilizzato esclusivamente per l'individuazione degli anticorpi del *T. pallidum* in campioni di sangue intero, siero o plasma. Nè il valore quantitativo nè il grado di aumento della concentrazione di anticorpi del *T. pallidum* possono essere determinati attraverso questo test qualitativo.
- Il test NADAL® Sifilide determina solo la presenza degli anticorpi del *T. pallidum* nei campioni e non va utilizzato come unico metodo per la diagnosi di infezioni da *T. pallidum*.
- Come per tutti i test diagnostici, tutti i risultati andrebbero interpretati insieme ad altre informazioni cliniche reperibili dal medico.
- Se il risultato del test dovesse essere negativo ma i sintomi clinici persistono, si raccomanda di utilizzare altri metodi di test. Un risultato negativo non preclude, in ogni caso, la possibilità di una infezione da *T. pallidum*.

13. Caratteristiche Tecniche

Risultati attesi

Il test NADAL® Sifilide è stato comparato con uno dei principali test TPHA Sifilide in commercio, dimostrando un livello di accuratezza generale pari o superiore al 99.7%.

Sensibilità Clinica, Specificità ed Accuratezza

Il test NADAL® Sifilide ha identificato correttamente un gruppo di campioni di sieroconversione ed è stato comparato con uno dei principali test TPHA Sifilide reperibile in commercio utilizzando campioni clinici. I risultati mostrano che la sensibilità relativa del test NADAL® Sifilide è di 99.7% e la specificità relativa di 99.6%.

Test NADAL® Sifilide vs. TPHA

		TPHA		
		Positivo	Negativo	Totale
Test NADAL® Sifilide	Positivo	384	2	386
	Negativo	1	493	494
	Totale	385	495	880

Sensibilità relativa: 99,7% (98,6%-100,0%)*

Specificità relativa: 99,6% (98,6%-100,0%)*

Accuratezza: 99,7% (99,0%-99,9%)*

* 95% Intervallo di fiducia

Precisione

Intra-dosaggio

Il livello di precisione nell'ambito di una stessa serie è stato misurato utilizzando 10 ripetizioni di quattro campioni: uno negativo, uno poco positivo, uno medio positivo, uno alto positivo. I valori del negativo, poco positivo, mediamente positivo, altamente positivo sono stati identificati correttamente in più del 99% dei casi (>99%).

Inter-dosaggio

La precisione intermedia tra serie differenti è stata determinata attraverso 10 dosaggi diversi eseguiti sugli stessi quattro campioni: uno negativo, uno poco positivo, uno medio positivo, uno alto positivo. Durante un periodo di 3 giorni sono stati testati tre differenti lotti di test NADAL® Sifilide utilizzando campioni negativi, poco positivi, mediamente positivi ed altamente positivi. I campioni sono stati correttamente identificati in più del 99% dei casi (>99%).

14. Bibliografia

1. Claire M. Fraser. Complete genome sequence of *Treponema Pallidum*, the Syphilis spirochete, Science 1998; 281 July: 375-381
2. Center for Disease Control. Recommendations for diagnosing and treating Syphilis in HIV-infected patients, MMWR Morb. Mortal Wkly Rep. 1988; 37: 601
3. Aral R. Marx. Crack, sex and STD, Sexually Transmitted Diseases, 1991; 18:92-101
4. J.N. Wasserheit. Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases, Sexually Transmitted Diseases 1992; 19:61-77
5. Johnson Phillip C. Testing for Syphilis, Dermatologic Clinic 1994; 12 Jan: 9-17

Rev.1, 2015-07-17 BN

1. Zastosowanie

Test NADAL® Syphilis jest szybkim testem immunologicznym do jakościowego wykrywania przeciwciał IgG oraz IgM przeciwko *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) w krwi pełnej, surowicy lub osoczu w celu zdiagnozowania kiły.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Treponema pallidum jest bakterią wywołującą chorobę przenoszoną głównie drogą płciową, kiłę.

T. pallidum jest krętkiem bladym, bakterią posiadającą błonę zewnętrzną i cytoplazmatyczną membranę¹ i w porównaniu do innych bakterii patogennych stosunkowo niewiele o niej wiadomo. Według Centrum Kontroli Chorób (CDC), od 1985 roku liczba infekcji syfilisem znacznie wzrosła.² Przyczyną tego wzrostu może być zwiększona konsumpcja kokainy crack w ostatnich latach oraz wysoki wskaźnik prostytucji wśród osób zażywających narkotyki.³ Podczas badań stwierdzono istotną korelację między zarażeniem i przekazywaniem wirusa HIV i kiły.⁴

Charakterystyczne dla kiły są pewne etapy kliniczne rozwoju choroby i długie okresy utajonej, bezobjawowej infekcji. Początkowy etap infekcji objawia się wystąpieniem owrzodzenia. Reakcje przeciwciał przeciwko *T. pallidum* mogą być wykryte po 4-7 dniach od pojawienia się owrzodzenia. Infekcja jest możliwa do wykrycia do momentu rozpoczęcia odpowiedniego leczenia.⁵

Test NADAL® Syphilis opiera się na kombinacji cząsteczek pokrytych przeciwciałami syfilisu oraz unieruchomionych antygenów syfilisa w celu jakościowego i selektywnego wykrycia przeciwciał *T. pallidum* we krwi, surowicy lub osoczu.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Syphilis jest jakościowym, membranowym, immunologicznym testem do stwierdzania przeciwciał *T. pallidum* (IgG i IgM) w próbkach krwi pełnej, surowicy lub osocza. W teście tym na linii testowej znajduje się rekombinowany antygen syfilisu. Po dodaniu próbki do otworu na kasecie dochodzi do reakcji pomiędzy próbka a cząsteczkami pokrytymi antygenem kiły. Mieszanka przesuwa się chromatograficznie wzdłuż testu i reaguje z powiązanymi antygenami kiły. Podwójny test antygenowy może wykryć zarówno przeciwciała IgM jak i IgG w próbce. Jeżeli próbka zawiera przeciwciała *T. pallidum*, pojawia się kolorowa linia w polu testowym (T), co oznacza wynik pozytywny. Jeżeli próbka nie zawiera przeciwciał *T. pallidum*, kolorowa linia się nie ukazuje, co oznacza negatywny wynik testu. Czerwona linia powinna pojawić się zawsze w polu kontrolnym (C). Linia kontrolna jest kontrolą wewnętrzną testu i służy jako potwierdzenie dodania odpowiedniej ilości próbki oraz odpowiedniego nasiąknięcia membrany.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 20 testów kasetowych NADAL® Syphilis
- 20 jednorazowych pipet
- 1 Bufor (tylko do próbek krwi pełnej)
- 1 Instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Pojemnik na próbki

- Lancety (tylko dla próbek z opuszka palca)
- Wirówka
- Stoper
- Heparynowane kapilary i gruszka do pipet (tylko do pobierania krwi z palca).

6. Przechowywanie i termin ważności

Przechowywać test w szczelnie zamkniętym opakowaniu w temperaturze pokojowej lub schłodzony (2-30°C). Kaseta testowa i odczynniki mogą być używane do momentu upłynięcia daty ważności znajdującej się na opakowaniu. Otworzyć opakowanie bezpośrednio przed przeprowadzeniem testu. Nie zamrażać. Nie używać po upływie daty ważności.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do diagnostyki *in-vitro* przez wykwalifikowany personel.
- Nie stosować po upływie terminu ważności.
- Nie jeść, nie pić i nie palić w pobliżu próbek i zestawu testowego.
- Nie wykorzystywać testu, jeśli opakowanie testu jest uszkodzone.
- Wszystkie próbki traktować jako potencjalnie niebezpieczne dla zdrowia oraz obchodzić się z nimi jak z materiałami zakaźnymi. Przestrzegać obowiązujących zasad bezpieczeństwa oraz standardowego postępowania w przypadku usuwania odpadów.
- Podczas badania próbek nosić odpowiednią odzież ochronną (kittel, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne).
- Zużyty test usunąć zgodnie z obowiązującymi zasadami.
- Wilgotność oraz temperatura mogą wpływać negatywnie na wyniki testu.

8. Pobranie, przygotowanie i przechowywanie próbki

Test NADAL® Syphilis może być przeprowadzany z próbki krwi pełnej (żylna lub z nakłucia palca), surowicy lub osocza.

Krew pełna pobrana poprzez nakłucie palca:

Umyć ręce pacjenta mydłem i ciepłą wodą lub przetrzeć gazikiem z alkoholem. Osuszyć.

Masować dłoń pocierając w kierunku opuszka palca nakłuwanego bez dotykania miejsca nakłucia.

Nakłuć skórę sterylnym nakłuwaczem. Wytrzeć pierwszą kroplę krwi.

Delikatnie masować rękę od nadgarstka do dłoni i palców, aby uformować okrągłą kroplę krwi w miejscu nakłucia.

Próbkę krwi pełnej pobranej z opuszka palca dodać do kasety testowej za pomocą **kapilary**:

- Pobrać ok. 50 µl próbki krwi za pomocą kapilary. Uważać, aby nie dostało się powietrze do wnętrza.
- Używając gruszki do pipet nanieść próbkę krwi do otworu na próbkę (S).

Próbkę krwi pełnej pobranej z opuszka palca **nakropić bezpośrednio z palca** na kasetę testową:

- Palec pacjenta trzymać w ten sposób, by krople krwi znalazły się dokładnie nad otworem (S).
- Dodać dwie krople krwi do otworu (S), bądź trzymając palec pacjenta nad otworem (S) dotknąć kropłą krwi otwór na próbkę uważając, aby nie dotknąć go bezpośrednio palcem.

Pozyskanie krwi pełnej przez wenopunkcję

Pobrać krew pełną przez wenopunkcję za pomocą standardowej procedury.

Pozyskanie surowicy lub osocza

Celem unikiem hemolizy surowica lub osocze powinny być oddzielone od krwi tak szybko, jak to możliwe. Używać tylko klarownych, niehemolizowanych próbek.

Przechowywanie i ważność

Badanie powinno być przeprowadzone bezpośrednio po pobraniu próbki. Nie przechowywać próbek za długo w temperaturze pokojowej. Surowica i osocze może być przechowywana w temperaturze 2-8°C do 3 dni. W przypadku dłuższego przechowywania próbki należy przechowywać w temperaturze poniżej -20°C.

Krew żylna powinna być przechowywana w temperaturze 2-8°C, jeżeli test będzie przeprowadzony w przeciągu 2 dni od pobrania próbki. Nie zamrażać próbek krwi pełnej. Krew pełna pobrana poprzez nakłucie palca powinna być badana bezpośrednio po pobraniu.

Przed wykonaniem testu doprowadzić próbkę do temperatury pokojowej. Zamrożone próbki muszą być całkowicie rozmrożone i wymieszane zanim zostaną poddane badaniu. Próbki nie powinny być wielokrotnie zamrażane i rozmrażane.

Podczas transportu próbek należy przestrzegać zasad lokalnego sposobu zabezpieczania próbek.

9. Przeprowadzenie testu

Przed przeprowadzeniem testu doprowadzić test kasetowy, próbkę, i/lub kontrolę do temperatury pokojowej (15-30 °C).

Opakowanie z testem doprowadzić do temperatury pokojowej. Otworzyć opakowanie i wyjąć test. Użyć go bezpośrednio po wyjęciu z opakowania.

Położyć test na czystej i równej powierzchni.

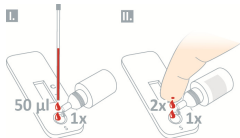
1a) Próbka krwi pełnej (z opuszka palca):

I. Przy użyciu kapilary:

napętnić kapilarę krwią z palca i przenieść ok. 50 µl próbki do pola testowego (S). Następnie dodać 1 kroplę buforu (około 40 µl).

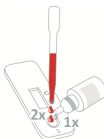
II. Krew bezpośrednio z palca:

nakropić 2 krople wiszącej krwi pełnej (ok. 50 µl). Upewnić się, aby palec nie miał bezpośredniego kontaktu z membraną. Następnie dodać 1 kroplę buforu (około 40 µl). Włączyć stoper.



1b) Próbka krwi pełnej (z żyły):

Trzymając pipetę pionowo dodać 2 krople krwi pełnej żyłnej (ok. 50 µl) do pola testowego (S). Następnie dodać 1 kroplę buforu (ok. 40 µl). Włączyć stoper.



1c) Próbki surowicy lub osocza:

Trzymając pipetę pionowo dodać 3 krople surowicy lub osocza (ok. 75 µl) do pola testowego (S). Włączyć stoper.



2. Czekać na pojawienie się kolorowej linii/kolorowych linii. Wynik testu odczytać po 10 minutach. Nie odczytywać wyniku po więcej niż 30 minutach.



10. Interpretacja wyników

Pozytywny:

Pojawiają się dwie czerwone linie: jedna w obszarze kontrolnym (C), a druga w obszarze testowym (T).



Uwaga: Intensywność zabarwienia czerwonej linii w polu testowym (T) może się różnić w zależności od koncentracji przeciwciał *T. pallidum* w próbce. Dlatego nawet słabe zabarwienie w obszarze testowym (T) powinno być traktowane jako wynik pozytywny.

Negatywny:

Pojawia się tylko jedna czerwona linia w obszarze kontrolnym (C).



Nie pojawia się czerwona linia w obszarze testowym (T).

Nieważny:

Niepojawienie się linii kontrolnej wskazuje na nieprawidłowe działanie testu. Badanie należy powtórzyć przy użyciu nowego testu.



Uwaga: Niewystarczająca ilość próbki bądź niewłaściwe przeprowadzenie testu są najbardziej prawdopodobnymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej. Należy dokładnie skontrolować przebieg przeprowadzania testu i powtórzyć badanie przy użyciu nowego testu. Jeśli problem powtórzy się, nie używać testów z tej partii i skontaktować się z dystrybutorem.

11. Kontrola jakości

Kaseta testowa posiada funkcję kontroli wewnętrznej. Pojawienie się w obszarze kontrolnym linii kontrolnej (C) uważane jest za kontrolę wewnętrzną. Pojawienie się linii potwierdza wystarczające użycie próbki oraz prawidłowe przeprowadzenie testu.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Syphilis przeznaczony jest tylko do diagnostyki *in-vitro* i do przeprowadzania przez wykwalifikowany personel.
- Test NADAL® Syphilis służy do wykrywania przeciwciał *T. pallidum* we krwi pełnej, surowicy lub osoczu. Na podstawie tego jakościowego testu nie można określić wyniku ilościowo ani też określić wzrostu koncentracji *T. pallidum*.
- Test NADAL® Syphilis pokazuje obecność przeciwciał *T. pallidum* w próbce, jednak pozytywny wynik testu nie

powinien być jedynym kryterium diagnozy infekcji *T. pallidum*.

- Jak w przypadku wszystkich testów diagnostycznych, wyniki muszą być interpretowane łącznie z innymi dostępnymi danymi klinicznymi.
- Jeżeli pomimo negatywnego wyniku występują objawy kliniczne, zalecane są dalsze testy innymi metodami. Wynik negatywny nie wyklucza infekcji bakterią *T. Pallidum*.

13. Charakterystyka testu

Wartości oczekiwane

Test NADAL® Syphilis został porównany z komercyjnym wiodącym na rynku testem TPHA na kiłę i wykazał zgodność w 99,7%.

Czułość, swoistość i zgodność kliniczna

Test NADAL® Syphilis poprawnie zidentyfikował próbki panelu po serokonwersji i został porównany przy użyciu próbek klinicznych z wiodącym komercyjnym testem TPHA-Syphilis. Wynik wykazał relatywną czułość testu NADAL® Syphilis na poziomie 99,7% oraz swoistość na poziomie 99,6%.

Test NADAL® Syphilis w porównaniu z testem TPHA

		TPHA		
		Pozytywny	Negatywny	Suma
Test NADAL® Syphilis	Pozytywny	384	2	386
	Negatywny	1	493	494
	Suma	385	495	880

Relatywna czułość: 99,7% (98,6-100,0%)*

Relatywna swoistość: 99,6% (98,6-100,0%)*

Zgodność: 99,7% (99,0%-99,9%)*

* 95% Przedział ufności

Dokładność

Intra-Assay

Dokładność testu została 10-krotnie przebadana na czterech próbkach (negatywnej, słabo-pozytywnej, średnio-pozytywnej i silnie-pozytywnej). Negatywne, słabo-pozytywne, średnio-pozytywne i silnie-pozytywne wartości zostały prawidłowo ocenione w ponad 99%.

Inter-Assay

Dokładność testu w ramach badania inter-assay została przebadana na czterech różnych próbkach (negatywnej, słabo-pozytywnej, średnio-pozytywnej i silnie-pozytywnej) przy użyciu 10 niezależnych testów. Trzy różne serie testów NADAL® Syphilis zostały przetestowane w ciągu 3 dni na negatywnych, słabo-pozytywnych, średnio-pozytywnych i silnie-pozytywnych próbkach. Próbki te zostały w ponad 99% poprawnie ocenione.

14. Bibliografia

1. Claire M. Fraser. Complete genome sequence of *Treponema Pallidum*, the syphilis spirochete, Science 1998; 281 July: 375-381.
2. Center for Disease Control. Recommendations for diagnosing and treating syphilis in HIV-infected patients, MMWR Morb. Mortal Wkly Rep. 1988; 37: 601
3. Aral R. Marx. Crack, sex and STD, Sexually Transmitted Diseases, 1991; 18:92-101
4. J.N. Wasserheit. Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases, Sexually Transmitted Diseases 1992; 19:61-77
5. Johnson Phillip C. Testing for Syphilis, Dermatologic Clinic 1994; 12 Jan: 9-17.

Rev. 1, 2015-07-17 AM

1. Použití

The NADAL® Syfilis test je imunochromatografický rychlost test sloužící ke kvalitativní detekci protilátek (IgG und IgM) proti *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) v plné krvi, séru či plazmě na podporu diagnózy syfilisu.

2. Úvod

Treponema pallidum (*T. pallidum*) je původcem pohlavní nemoci syfilis. *T. pallidum* je spirochéta, bakterie s vnějším obalem a cytoplazmatickou membránou¹.

Ve srovnání s jinými bakteriálními patogeny není o tomto organismu známo mnoho informací. Podle centra kontroly nemocí (CDC) se od roku 1985 počet infekcí syfilis výrazně zvyšuje². Klíčovými faktory, které přispěly k růstu počtu nemocných, bylo rozšíření kokainu a častá prostituce mezi uživateli drog³. Jedna ze studií uvádí podstatnou epidemiologickou souvislost mezi nabytím a přenosem HIV viru a syfilisu. Více klinických stádií, dlouhé latentní období a asymptomatické infekce jsou charakteristické pro syfilis. Počáteční stádium se projevuje syfilitickým vředem. Reakce protilátek na *T. pallidum* bakterií může být prokázána během 4-7 dní po vytvoření vředu. Infekce zůstává prokazatelná dokud pacient nepodstoupí odpovídající léčbu³.

NADAL® Syfilis test využívá dvojité kombinace antigenů – obsahuje částice potažené syfilis antigenem a syfilis antigen imobilizovaný na membráně ke kvalitativní a selektivní detekci *T. pallidum* protilátek (IgG and IgM) v plné krvi, séru či plazmě.

3. Princip testu

NADAL® Syfilis test je kvalitativní membránový imunochromatografický rychlost test pro detekci *T. pallidum* protilátek (IgG a IgM) v plné krvi, séru či plazmě. Test funguje na principu navázaného rekombinantního syfilis antigenu v testovací oblasti testovací kazety. Po přidání vzorku do oblasti určeného pro vzorek, dojde k reakci s částicemi potaženými antigeny syfilisu, které jsou obsaženy v oblasti určené pro vzorek. Směs putuje membránou a reaguje s navázanými antigeny syfilisu. Dvojitý antigen formát může detekovat IgG i IgM ve vzorku. V případě, že vzorek obsahuje *T. pallidum* protilátky, objeví se v testovací oblasti barevná linie, která značí pozitivní výsledek. Neobsahuje-li žádné *T. pallidum* protilátky, v testovací oblasti se neobjeví žádná linie a výsledek je negativní. Jako kontrola průběhu testu by se vždy v kontrolní oblasti měla objevit červená linie, která značí použití dostatečného množství vzorku a zvlhčení membrány.

4. Reagencie a dodávaný materiál

- 20 NADAL® Syfilis testovacích kazet
- 20 jednorázových pipet
- 1 Návod k použití
- 1 Pufr (pouze pro plnou krev)

5. Další potřebný materiál

- Nádobka pro odběr vzorků
- Lancety (na vzorky plné krve z vpíchnutí do prstu)
- Jednorázová heparinovaná kapilára a nasávací balónek (na vzorky plné krve z vpíchnutí do prstu)
- Centrifuga
- Stopky

6. Skladování a stabilita

Skladujte zabalený test při pokojové teplotě či chlazený (2-30°C). Testovací kazety jsou použitelné do doby uvedené na obalu. Testovací kazety by měly zůstat do doby upotřebení nerozbalené. Nezmrazovat. Nepoužívat po uplynutí data spotřeby.

7. Pozor

- Pouze pro profesionální užití v *in-vitro* diagnostice.
- Nepoužívejte po uplynutí data spotřeby.
- Nejezte, nepijte a nekuřte v blízkosti vzorků ani v místech manipulace s testovacím kitem.
- Nepoužívejte test s poškozeným obalem.
- Se vzorky manipulujte jako s potenciálně infekčními. Dodržujte prosím bezpečnostní předpisy týkající se práce s biologicky nebezpečnými materiály i jejich likvidace.
- Během manipulace se vzorky noste ochranné oblečení jako laboratorní plášť, jednorázové rukavice a brýle.
- Dodržujte místní opatření při likvidaci použitého materiálu.
- Vlhkost a teplota mohou ovlivnit výsledek testu.

8. Odběr vzorku a příprava

NADAL® Syfilis test může být proveden s plnou krví (ze žíly na paži či z bříška prstu), séra či plazmy.

Odběr plné krve z bříška prstu:

Ruku pacienta omýjte mýdlem a teplou vodou, nebo ji očistěte dezinfekčním tampónem. Osušte. Masírujte ruku bez doteku místa vpichu směrem dolů až k prostředníčku nebo prsteníčku.

Vpíchněte sterilní lancetu do bříška prstu. První kapku krve utřete.

Jemně masírujte ruku od zápěstí k dlaní a vytvořte kulatou kapku na místě vpichu.

Přidejte vzorek kapky krve z prstu na testovací kazetu za pomoci **kapiláry**:

- Vložte konec kapiláry do krve, dokud se nenaplní zhruba 50 µl. Zamezte tvorbě vzduchových bublinek.
- Nasaďte balónek na odebrání vzorku přes horní část kapiláry a stiskněte ho tak, aby se vzorek plně krví uvolnil do oblasti pro nanesení vzorku na testovacím proužku.

Přidejte vzorek kapky krve z prstu na testovací kazetu **přímo z prstu**:

- Nastavte prst pacienta přesně nad pole pro vzorek (S) na testovací kazetě.
- Nechte z místa vpichu prstu ukápnout 2 kapky do středu oblasti určené pro vzorek (S) na testovací kazetě, nebo pohybuje prstem pacienta tak, aby se visící kapka krve dotýkala oblasti určené pro vzorek (S). Zamezte však přímému kontaktu prstu s touto oblastí (S).

Odběr plné krve ze žíly:

Odeberte plnou krev ze žíly dle standardního postupu.

Získání séra a plasmy:

Oddělte sérum či plazmu co nejrychleji tak, aby se zabránilo hemolýze. Používejte pouze čiré nehemolyzované vzorky.

Skladování:

Test by měl být proveden bezprostředně po odběru vzorků. Neuchovávejte vzorky příliš dlouho při pokojové teplotě. Sérum a plazma mohou být skladovány při 2-8°C až po dobu 3 dnů. Na delší skladovací dobu by měly být vzorky skladovány

při teplotě -20°C. Krev ze žíly by měla být skladována při 2-8°C v případě, že je test proveden během dvou dnů po odběru vzorku. Vzorky plné krve nezmrazujte. Plná krev z bříška prstu by měla být testována neodkladně.

Přiveďte vzorky před provedením testu na pokojovou teplotu. Zamražené vzorky musí být před provedením testu zcela rozmražené a dobře promíchané. Vzorky by neměly být opakovaně zmrazeny a rozmrazeny.

Pokud jsou vzorky zasílány, musí být zabaleny v souladu s místními předpisy zahrnující přepravu etiologických vzorků.

9. Provedení testu

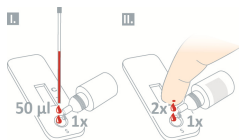
Před provedením testu přiveďte testovací kazetu, vzorky a pufr na pokojovou teplotu (15-30°C).

Obal s testovací kazetou přiveďte na pokojovou teplotu. Vyměňte testovací kazetu z obalu a co nejdříve ji použijte.

Testovací kazetu položte na čistý a rovný povrch.

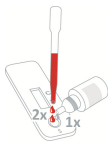
1a) Vzorek plné krve z bříška prstu:

- I. Použití kapilární trubičky: Naplňte kapilární trubičku a naneste zhruba 50 µl plné krve do oblasti určeného pro vzorek (S) na testovací kazetě. Pak přidejte 1 kapku pufru (zhruba 40 µl). Spusťte stopky.
- II. Použití visící kapky plné krve: Nakapejte 2 kapky visící plné krve z bříška prstu (zhruba 50 µl) do oblasti určené pro vzorek (S) na testovací kazetě. Pak přidejte 1 kapku pufru (zhruba 40 µl). Spusťte stopky.



1b) Vzorek plné krve ze žíly:

Držte pipetu kolmo a nakapejte 2 kapky plné krve (zhruba 50 µl) do oblasti určené pro vzorek (S) na testovací kazetě. Pak přidejte 1 kapku pufru (zhruba 40 µl). Spusťte stopky.



1c) Vzorek séra nebo plazmy:

Držte pipetu kolmo a nakapejte 3 kapky séra nebo plazmy (zhruba 75 µl) do oblasti určené pro vzorek (S) na testovací kazetě. Spusťte stopky.



2. Počkejte, až se objeví barevná linie. Výsledek odečtěte po 10 minutách. Výsledek neodečtějte po 30 minutách.



10. Interpretace výsledků

Pozitivní:

Objeví se dvě linie. Jedna linie by měla být v kontrolní oblasti (C) a další v testovací oblasti (T).



Poznámka: Intenzita červené linie v testovací oblasti se může lišit podle koncentrace *T. pallidum* protilátek ve vzorku.

Z tohoto důvodu by mělo být každé slabé zbarvení v testovací oblasti (T) vyhodnoceno jako pozitivní výsledek.

Negativní:

Objeví se pouze jedna červená linie v kontrolní oblasti (C). V testovací oblasti (T) není viditelná žádná linie.



Neplatný:

Absence kontrolní (C) linie značí selhání testovací procedury. Vzorek by se měl znovu otestovat.



Poznámka:

Nejčastějším důvodem selhání testu je nedostatečný obsah vzorku či nesprávné provedení testu. Zkontrolujte průběh procedury a proveďte test s novou testovací kazetou. V případě přetrvávajícího problému ukončete používání tohoto testu a kontaktujte svého distributora.

11. Kontrola kvality

Tato testovací kazeta obsahuje interní kontrolu kvality. V kontrolní oblasti (C) se objeví červená linie, která je kontrolou správného průběhu testu. Potvrzuje dostatečné množství použitého vzorku a správné provedení testu.

12. Omezení

NADAL® Syfilis test je pouze pro profesionální užití v *in-vitro* diagnostice.

Test slouží k detekci *T. pallidum* protilátek ve vzorcích plné krve, séra či plazmy. Při tomto kvalitativním testu není možno určit ani kvantitativní hodnoty, ani vřzst koncentrace *T. pallidum* protilátky.

NADAL® Syfilis test detekuje pouze přítomnost *T. pallidum* protilátek ve vzorku. Test by neměl být použit jako jediné kritérium diagnózy *T. pallidum* infekce.

Jako u všech diagnostických testů musí být všechny výsledky, které jsou lékaři k dispozici, vyhodnoceny společně s dalšími klinickými informacemi.

V případě, že výsledek testu je negativní, ale klinické příznaky nadále trvají, doporučují se další testy s jinými klinickými metodami. Negativní výsledek nevylučuje možnost infekce *T. pallidum*.

13. Výkonnostní charakteristiky

Očekávané hodnoty

NADAL® Syfilis test byl srovnán s předním komerčním TPHA syfilis testem. Ukázal celkovou přesnost 99,7%.

Klinická senzitivita, specifita, přesnost

NADAL® Syfilis test správně identifikoval vzorky podle panelu sérokonverze a byl srovnán s předním komerčním TPHA syfilis testem za použití klinických vzorků. Výsledek ukazuje relativní senzitivitu NADAL® Syfilis testu 99,7% a relativní specifitu 99,6%.

NADAL® Syphilis test vs. TPHA

		TPHA		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
NADAL® Syphilis Test	Pozitivní	384	2	386
	Negativní	1	493	494
	Celkem	385	495	880

Relativní senzibilita: 99,7% (98,6-100,0%)*

Relativní specifita: 99,6% (98,6-100,0%)*

Správnost: 99,7% (99,0-99,9%)*

*95% Interval spolehlivosti

Přesnost**Intra-Assay**

Přesnost testu byla zkoumána 10krát se čtyřmi vzorky (negativní, slabě pozitivní, středně-pozitivní a silně pozitivní). Negativní, slabě pozitivní, středně-pozitivní a silně pozitivní hodnoty byly správně identifikovány s více než 99% přesností.

Inter-Assay

Přesnost testu mezi testy byla určena čtyřmi stejnými vzorky (negativní, slabě pozitivní, středně-pozitivní a silně pozitivní) s 10 nezávislými testy. Tři různé šarže NADAL® Syphilis testu byly zkoumány během období 3 dnů s negativními, slabě pozitivními, středně pozitivními a silně pozitivními vzorky. Vzorky byly správně identifikovány s více než 99% přesností.

14. Reference

1. Claire M. Fraser. Complete genome sequence of *Treponema Pallidum*, the Syphilis spirochete, Science 1998; 281 July: 375-381
2. Center for Disease Control. Recommendations for diagnosing and treating Syphilis in HIV-infected patients, MMWR Morb. Mortal Wkly Rep. 1988; 37: 601
3. Aral R. Marx. Crack, sex and STD, Sexually Transmitted Diseases, 1991; 18:92-101
4. J.N. Wasserheit. Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases, Sexually Transmitted Diseases 1992; 19:61-77
5. Johnson Phillip C. Testing for Syphilis, Dermatologic Clinic 1994; 12 Jan: 9-17

Rev. 1, 2015-07-17 ZN

1. Anvendelses Formål

NADAL® Syphilis testen er en hurtig immuno-assay for kvalitativ detektering af antistoffer (IgC og IgM) mod *Treponema pallidum* (TP) i fuldblod, serum og plasma.

2. Introduktion

Treponema Pallidum (TP) er patogenet af den seksuelle overførte smitte Syphilis. TP er et spirochete bacterium med et yderlag og en cytoplasmatiske membran.¹

Der er relativt lidt viden omkring organismen i forhold til andre patogene bakterier. Ifølge Center for control og sygdomme (CDC), antallet af Syphilis infektioner er steget markant siden 1985.² Nøgle faktorerne til denne stigning inkluderer Crack Kokain epidemien og den høje koncentration af prostituerede i blandt narkotika misbrugere.³ Et studie bekræfter det store antal af HIV smittede kvinder viser et reaktivt Syphilis i serologisk test resultat.⁴

Flere kliniske stadier og lange perioder af latent, asymptomatiske infektioner er kendte tegn for Syphilis. Det primære stadium af en Syphilis infektion er (chanker) sår. Antistoffernes reaktion til TP bakteriet kan detekteres 4 til 7 dage efter (chanker) såres optræden. Infektionen forbliver synlig indtil patienten modtager passende behandling.⁵

NADAL® Syphilis testen udnytter kombinationer af antigen, et Syphilis antistof prælakeret med partikler og et Syphilis antigen til den kvalitative og selektive detektering af TP antistoffer i fuldblod, serum og plasma.

3. Test Princip

NADAL® Syphilis testen er en kvalitativ membran strimmel immuno-assay for detektering af TP antistoffer (IgG og IgM) i fuldblod, serum og plasma prøver. Med denne test procedure er rekombinant Syphilis antigen bundet til test linje regionen på strimlen.

Efter test strimlen er blevet nedsænket i prøven, reagerer prøven med det Syphilis antigen som er prælakeret med partikler af testen. Opløsningen løber kromatografisk med testen og reagerer med det immobiliserede Syphilis antigen. Hvis prøven indeholder TP antistoffer, så vil en farvet line vise sig i test regionen (T) som giver et positivt resultat. Denne dobbelt antigen test kan detektere både IgM og IgG i prøven. Hvis prøven ikke indeholder TP antistoffer, so vil ingen linje opstå i test linje regionen (T) hvilket giver et negativt resultat.

Uanset om tilstedeværelsen eller mfra af TP antistoffer i prøven, skal en rød linje altid forekomme i kontrol regionen (C). Optræden af den linje indikerer en ordentlig test procedure. Ved man fravær af denne kontrol linje (C) betyder at testen er ugyldig.

4. Materialer og Reagenser forsynet

- 20 NADAL® Syphilis test kassetter
- 20 Engangs Pipetter
- 1 Bufferopløsning (kun til fuldblod)
- 1 Indlægseddell

5. Nødvendigt Materiale og Reagenser som ikke er forsynet

- Prøve opsamlingsbeholder
- Lancets (Kun til fingerstik fuldblod)
- Engangs hepariniseret kapillærrør og pipette (Kun til fingerstik fuldblod)

- Centrifuge
- Timer

6. Opbevaring og Stabilitet

Testen kan blive opbevaret nedkølet i den lukkede pose eller ved stue temperatur (4-30°C). Test strimlen og reagenserne må blive brugt indtil udløbsdatoen indikeret på etiketten. Test strimlerne skal forblive forsegledede i folie posen indtil brug. Frys ikke test strimlerne. Brug ikke efter udløbsdatoen.

7. Advarsler og Forholdsregler

- For Brug kun til professionel *in-vitro* diagnostik
- Ikke spise, drikke eller ryge i test området.
- Brug ikke test strimlen hvis folie pakken er blevet beskadiget.
- Alle prøver er potentielle farlige for helbred og skal håndteres som var det smitsomt forskningsmateriale.
- Tag passende beskyttende tøj på under testen (Laboratorie frakke, engangs handsker og briller).
- Brugte test skal smides ud i forhold til lokale resturektioner.
- Fugtighed og temperatur kan påvirke resultatet negativt.

8. Prøvetagning og Opbevaring

NADAL® Syphilis testen kan udføres ved fuldblodsprøve (enten arm vene eller fingerspids), serum eller plasma.

Fuldblod fra fingerspids:

Vask patientens finger med sæbe og varmt vand eller tør den af med gennemblødt alcohol vatpind. Tør forsigtigt og grundigt.

Forsigtigt massere patientens hånd i den retning af langefingeren eller ringfingeren. Vær opmærksom på ikke at berøre det rengjorte sted hvor der stikkes.

Stik den sterile lancet på området så der går hul på huden, Tør de første dråber blod væk.

Forsigtigt massere patientens hånd fra håndledet, over håndfladen, til fingrene for at sikre at der vil komme nok bloddråber på området.

Bestemmelse af fuldblod ved **kapillærrør** til test:

- Ved enden af kapillærrøret, indsamlet ca. 50µl af blodet fra stikket. Undgå luftbobler.
- Placer pipetten oven på kapillærrøret og ved at trykke på pipette ballon dispenseren, placeres blod prøven i prøve åbningen (S) på kassette testen.
Bestemmelse af fuldblod ved **direkte dråber** på testen:
- Hold patientens finger så bloddråberne falder på prøve åbningen (S) af kassette testen.
- Dryb to dråber af fuldblod fra fingerspidsen på cassette testens prøve åbning(S), eller flyt patientens hånd så bloddråberne rører prøve åbningen på kassette testen (S). Undgå direkte kontakt med prøve åbningen af cassette testen (S).

Fuldblods prove ved vene

Indsamlet blod som ved standard procedure.

Collection of serum and plasma

Adskil serumen og plasmaen fra fuldblodet lige så snart det er muligt, for at undgå hæmolyse.

Opbevaring af prøve

Testen skal udføres lige efter prøvetagning. Opbevar ikke prøven i længere tid ved stue temperatur. Serum og plasma prøver kan bevares i op til 3 dage ved 2-8°C. For længere opbevaring skal prøverne opbevares under -20°C. Fuldblodsprøver fra vene i arm, kan opbevares ved 2-8°C i op til 2 dage indtil testning. Frys ikke fuldblod. Fuldblod fra finger skal bruges med det samme..

Lad prøverne komme til stuetemperatur før test. Frosne prøver skal optøes grundigt og mixes før testning. Prøver må ikke fryses og optøes flere gange.

Hvis prøven skal transporteres, skal dette gøres i forhold til de lokale regler.

9. Test Procedure

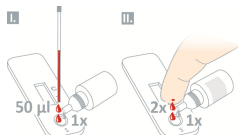
Lad test udstyr og prøve komme til stuetemperatur (15-30°C) før testning.

Lad folie posen komme til stuetemperatur før brug, åben dernæst posen og tag kassette testen ud, bruges med det samme.

Placer kassette testen på en flad og ren overflade.

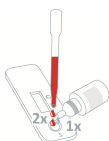
1a) Fingerstick whole blood specimens:

- I. **Brug kappilarøret:** fyld kappilarøret og dryp to dråber blod (Ca. 50 µl) i prøve åbningen af kassette testen (S), derefter dryppes en dråbe bufferopløsning (Ca. 40 µl). Start timeren.
- II. **Direkte Blodsdråber:** Dryp to dråber fuldblod (Ca. 50 µl) i prøve åbningen af kassette testen (S), derefter dryppes en dråbe bufferopløsning (Ca. 40 µl). Start timeren.



1b) Fuldblodsprøver vene:

Hold pipetten lodret og dryp to dråber blod (Ca. 50 µl) i prøve åbningen af kassette testen (S), derefter dryppes en dråbe bufferopløsning (Ca. 40 µl). Start timeren.



1c) Serum or plasma specimens:

Hold pipetten lodret og dryp 3 dråber af plasma eller serum (Ca. 75 µl) i prøve åbningen af kassette testen (S), derefter Startes timeren.



2. Vent indtil der fremkommer en eller flere rødelinjer. resultatet kan aflæses efter 10 minutter. Aflæs ikke resultatet efter 30 minutter.



10. Fortolkning af resultater

Positiv:

To klare farvede streg fremkommer. En streg i kontrol regionen (C) og en anden streg fremkommer i test regionen (T).



OBS: Intensiteten af den farvet streg kan variere afhængigt af koncentrationen af antistoffer i prøven. Således skal en svag farvet streg i test regionen (T) stadig betragtes som positiv.

Negativ:

Kun en farvet streg fremkommer ved kontrol linjen (C). Ingen farvet streg fremkommer i test regionen (T).



Ugyldig:

Ingen streg fremkommer i kontrol regionen (C).



OBS: De mest hyppige grunde til denne fejl, er utilstrækkelig prøve kvalitet eller forkert test procedure. Gennemgå testprocedure og gentag med en ny test. I tilfælde af at problemerne forsætter, afbryd testning og kontakt fabrikanten.

11. Kvalitets Kontrol

NADAL® Syphilis testen inkludere en internt control procedure. Den farvede linje som fremkommer i kontrol regionen (C) er betragtet som en positiv intern control procedure. Den bekræfter tilstrækkelig prøve mængde og korrekt test procedure. Kontrol standarder er ikke inkluderet i sættet. Derfor anbefales det, at de positive og negative kontroller udføres som god laboratorie praksis. Det vil bekræfte test procedure og soliditeten af testens egenskaber.

12. Begrænsninger

- The NADAL® Syphilis testen er kun til *in-vitro* diagnostik.
- Testen tjener udelukkende formålet for påvisning af *T. pallidum* antistoffer i fuldblod, serum eller plasma prøver. Hverken mængden eller stigning af *T. pallidum* antistoffer kan blive oplyst ved denne test.
- NADAL® Syphilis testen kan kun detektere forekomsten af *T. pallidum* i prøven og bør ikke bruges som eneste kriterie i diagnosen af TP infektion.
- Ligesom med alle andre diagnostiske test, skal alle resultater til en læge evalueres sammen med alt andet klinisk information.
- Hvis test resultatet er negativt og symptomerne bliver ved, anbefales det at bruge andre supplerende metoder. Et negativt test resultat udelukker ikke muligheden af *T. pallidum* infektion.

13. Egenskaber

Forventede værdier

NADAL® Syphilis testen er blevet sammenlignet med kommercielt lignende TPHA Syphilis test og har givet et overordnet præcision på 99,7%.

Klinisk Sensitivitet, Specificitet og Præcision

NADAL® Syphilis testen har korrekt identificeret eksemplarer af en serokonversions panel og er blevet sammenlignet med en

førende kommercielle TPHA Syphilis test ved brug af kliniske prøver. Resultatet viser at den relative sensitivitet af NADAL® Syphilis testen er 99.7%, og den relative specificity er 99.6%.

NADAL® Syphilis testen vs. TPHA

		TPHA		
		Positiv	Negativ	Total
NADAL® Syphilis Test	Positiv	384	2	386
	Negativ	1	493	494
	Total	385	495	880

Relative sensitivitet: 99.7% (98.6%-100.0%)*

Relative specifivitet: 99.6% (98.6%-100.0%)*

Præcision: 99.7% (99.0%-99.9%)*

* 95% konfidensintervaller

Præcision

Intra-Assay

Within-run præcisionen er blevet bestemt ved hjælp af 10 gentagelser af fire prøver: en negativ, en lav positiv, en medium positiv og en høj positiv. De negative, lave positive, medium positive og høje positive værdier blev korrekt identificeret >99% af tiden.











Inter-Assay


Between-run præcisionen er blevet bestemt ved 10 uafhængige assays på de samme fire prøver: en negativ, en lav positiv, en medium positive og en høj positiv. Tre forskellige partier af NADAL® Syphilis testen er blevet testet over en 3-dags periode ved brug af negative, lave positive, medium positive og høje positive prøver. Prøverne blev korrekt identificeret > 99% af tiden.

14. Referencer

1. Claire M. Fraser. Complete genome sequence of *Treponema Pallidum*, the Syphilis spirochete, Science 1998; 281 July: 375-381
2. Center for Disease Control. Recommendations for diagnosing and treating Syphilis in HIV-infected patients, MMWR Morb. Mortal Wkly Rep. 1988; 37: 601
3. Aral R. Marx. Crack, sex and STD, Sexually Transmitted Diseases, 1991; 18:92-101
4. J.N. Wasserheit. Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases, Sexually Transmitted Diseases 1992; 19:61-77
5. Johnson Phillip C. Testing for Syphilis, Dermatologic Clinic 1994; 12 Jan: 9-17

Rev. 1, 2015-07-17 JK

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	Né 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
	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro	In vitro - diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för in vitro-diagnostik	Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperaturbegränsning	Temperatuurlimiet	Temperaturbegrænsning
	Código do lote	Kód šarže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchkode
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertakäyttöinen	Får inte återvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges
	Prazo de validade	Spotřebujte do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Bestilingsnummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test

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

Denmark:

Tel: +31 703075 603

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