

NADAL[®] Trichomonas Vaginalis Test (test cassette)

REF 840003N-10



DE	Gebrauchsanweisung	2	PL	Sposób użycia	18
EN	Instructions for use	6	CZ	Návod k použití	22
FR	Instructions d'utilisation	10		Symbols	27
ES	Instrucciones de uso	14		Our Teams	28



1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test ist ein einfacher, chromatographischer Ein-Schritt-Immunoassay zum schnellen, qualitativen Nachweis von *Trichomonas vaginalis* in vaginalen Abstrichproben. Dieser Test ist für die Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose von Trichomoniasis bestimmt und nur für den professionellen Gebrauch ausgelegt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Trichomoniasis ist eine weit verbreitete sexuell übertragbare Infektion, die bei Männern und Frauen auftritt, obwohl Symptome häufiger bei Frauen vorkommen. Sie wird von einem parasitisch vorkommenden Protozoon namens *Trichomonas vaginalis* verursacht. *Trichomonas vaginalis* ist piriförmig und 7-30 µm lang. Es hat fünf Geißeln. Der große Kern befindet sich in der Regel am breiteren, vorderen Ende und enthält viele Chromatinkörnchen und ein kleines Karyosom. Das Zytoplasma enthält auch viele Körnchen, jedoch sind diese in den Giemsa-gefärbten Proben häufig nicht zu sehen. Die häufigsten Symptome der Trichomoniasis sind:

- Beschwerden beim Geschlechtsverkehr und beim Wasserlassen (bei beiden Geschlechtern)
- Schaumiger, gelb-grüner vaginaler Ausfluss mit einem starken, unangenehmen Geruch (bei Frauen)
- Irritation und Juckreiz im Genitalbereich (bei Frauen)
- In seltenen Fällen ist Trichomoniasis mit Schmerzen im Unterleib assoziiert (bei Frauen)

Bei Frauen beschränkt sich eine Trichomoniasis-Infektion in der Regel auf die Scheide. Die Mikroorganismen können jedoch gelegentlich auch in die Harnwege eindringen und Zystitis (Blasenentzündung) verursachen. Trichomoniasis kann stark genug sein, um einen abnormalen PAP-Abstrich zu verursachen, woraus die Mikroorganismen auch detektiert werden können, und kann erneut auftreten. Obwohl *Trichomonas vaginalis* kleine rote Läsionen am Gebärmutterhals verursachen kann, dringt es weder in den Gebärmutterhals oder die Eileiter ein, noch wird die Fruchtbarkeit beeinträchtigt.

Es gibt Hinweise darauf, dass Personen mit Trichomoniasis einem höheren Risiko ausgesetzt sind, sich mit einer HIV-Infektion während des sexuellen Kontakts mit einem HIV-infizierten Partner zu infizieren.

3. Testprinzip

Der NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test basiert auf dem Prinzip hochspezifischer Bindungsreaktionen zwischen Antigenen und Antikörpern, welche verwendet werden, um spezifische Substanzen in den Proben zu analysieren. Die Hauptantikörper und -puffer, die im NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test verwendet werden, sind wie folgt: Testlinienbereich (T): Maus-anti-*Trichomonas*-Antikörper (26 µg/test); Kontrolllinienbereich (C): polyklonale Ziege-anti-Maus-IgG (62 µg/test); Konjugat-Pad: Maus-anti-*Trichomonas*-Antikörper-kolloidales Gold-Konjugat (18 µg/test).

Der NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test ist ein Sandwich-Immunoassay. Die Testkassette enthält einen Nitrocellulose-Membranstreifen mit immobilisierten Maus-anti-*Trichomonas*-Antikörpern im Testlinienbereich (T). Ziege-anti-Maus-Antikörpern sind im Kontrolllinienbereich (C) immobilisiert.

Die Probe wird in die Probenvertiefung (S) der Testkassette gegeben. Das Gold-Konjugat-Pad enthält weitere Maus-anti-*Trichomonas*-Antikörper, die an kolloidales Gold gekoppelt sind. Der Analyt (*Trichomonas*-Antigen) in der Probe reagiert mit den Gold-gekoppelten Maus-anti-*Trichomonas*-Antikörpern des Gold-Konjugat-Pads, wodurch Antigen-Antikörper-kolloidales Gold-Komplexe entstehen. Währenddessen wandert die Flüssigkeit die Membran entlang und transportiert diese Komplexe durch Kapillarkraft, die durch das Absorptionspad unterstützt wird, zu den entsprechenden immobilisierten Maus-anti-*Trichomonas*-Antikörpern. Hier werden sie abgefangen und bilden einen Sandwich-Komplex aus immobilisierten Antikörper-Antigen (Analyt)-Antikörper-kolloidales Gold. Nur wenn die zugegebene Probe eine gewisse Konzentration von *Trichomonas*-Antigen enthält, führt die Bildung dieses Sandwich-Komplexes zur Entstehung einer sichtbaren, farbigen Linie im Testlinienbereich (T) der Membran. Wenn in der Probe kein *Trichomonas*-Antigen vorhanden ist, wird keine Testlinie im Testlinienbereich der Membran erscheinen. Die Gold-Konjugate wandern weiter bis zum Kontrolllinienbereich (C) der Nitrocellulose-Membran. Dort bilden diese Konjugate Komplexe mit den immobilisierten Ziege-anti-Maus-IgG auf der Membran, wodurch eine farbige Kontrolllinie (C) gebildet wird.

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

4. Bestandteile der Testpackung

- 10 NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Testkassetten (inkl. Einwegpipetten)
- 10 Extraktionsröhrchen
- Gemäß 93/42/EWG mitgeliefertes zusätzliches Material: 10 Abstrichtupfer CE 0197



Dalian Rongbang Medical Healthy Devices Co., Ltd., Guoyi St, Ganjingzi, Dalian, Liaoning, China (bevollmächtigter EU-Repräsentant Yao Tong S.L., Ausiàs March, 92; 08013 Barcelona, Spain)

- 1 Extraktionspuffer
- 1 Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test-Kits sollten bei 4-30°C gelagert und bis zum auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwendet werden. NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Testkassetten sind gegenüber Feuchtigkeit und Hitze empfindlich.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Tests nicht wiederverwenden.

- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontaminierung zu vermeiden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test Kits austauschen oder mischen.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Testkits umgegangen wird.
- Vermeiden Sie das Verspritzen oder die Erzeugung von Aerosolen.
- Wischen Sie verschüttete Flüssigkeiten gründlich mit einem angemessenen Desinfektionsmittel auf.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Sanitärzustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).

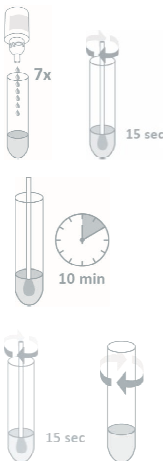
8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Probennahme

Entnehmen Sie einen sterilen Abstrichtupfer dem Beutel. Öffnen Sie vorsichtig die vaginale Öffnung und führen Sie den Abstrichtupfer ca. 5 – 7,5 cm in die Scheide ein. Seien Sie besonders vorsichtig, wenn die Patientin schwanger ist. Eine unsachgemäße Probennahme kann zu einer schlechten visuellen Testauswertung führen und ungültige Ergebnisse verursachen.

Probenvorbereitung

- Bringen Sie alle Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur.
- Geben Sie 7 Tropfen Extraktionspuffer in das Extraktionsröhrchen. Geben Sie den Tupfer mit der Abstrichprobe ins Röhrchen und drehen Sie ihn kräftig, um die Reagenzien für ca. 15 Sekunden durchzumischen. Inkubieren Sie die Mischung mit dem Abstrichtupfer im Röhrchen für 10 Minuten bei Raumtemperatur.
- Drehen Sie den Abstrichtupfer 15 Sekunden lang energisch und drücken Sie so viel Flüssigkeit wie möglich aus dem Tupfer, indem Sie die Faserspitze des Abstrichtupfers drehen und gegen die Wand des Röhrchens drücken. Entsorgen Sie den Abstrichtupfer. Mischen Sie den Inhalt des Röhrchens durch, indem Sie das Röhrchen sanft schwenken. Der Abstrichtupfer-Extrakt sollte unverzüglich getestet oder gekühlt gelagert werden.



- Wenn der Abstrichtupfer nicht unverzüglich extrahiert werden kann, sollte er gekühlt vorzugsweise in einem Transportröhrchen bis zu 5 Tage gelagert werden. Frieren Sie den Abstrichtupfer nicht ein. Der Abstrichtupfer kann unter Umgebungsbedingungen zum Teststandort transportiert werden. Transportmedien sollten nicht verwendet werden.

9. Testdurchführung

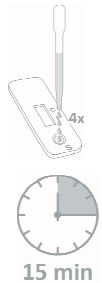
Bringen Sie die Tests, Puffer und Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C). Die Testkassette sollte bis zur Verwendung im verschlossenen Folienbeutel verbleiben.

1. Entnehmen Sie die NADAL® Trichomonas Vaginalis Testkassette dem verschlossenen Folienbeutel und legen Sie sie auf eine ebene, trockene Oberfläche. Die besten Ergebnisse erzielen Sie, wenn der Test unverzüglich nach Öffnen des Folienbeutels durchgeführt wird.

2. Halten Sie die Einwegpipette senkrecht über die Probenvertiefung (S) der Testkassette und geben Sie 4 Tropfen der extrahierten Probe in die Probenvertiefung (S).

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

3. Werten Sie das Testergebnis nach 15 Minuten aus. Nach mehr als 15 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



10. Testauswertung

Die oben angegebene Auswertzeit basiert auf einer Auswertung der Testergebnisse bei Raumtemperatur (15-30°C). Wenn Ihre Raumtemperatur deutlich niedriger als 15°C ist, dann sollte die Ableszeit entsprechend erhöht werden.

Positiv

Zwei farbige Linien erscheinen im Ergebnisfenster. Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C), die andere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich (T).



Hinweis: Generell gilt, dass je höher die Analytkonzentration in der Probe ist, desto stärker ist die Farbintensität der Linie "T". Wenn die Analytkonzentration nahe, aber noch innerhalb der Sensitivitätsgrenze des Tests liegt, wird die Farbintensität der Linie "T" sehr schwach sein.

Negativ

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



Ungültig

Die Kontrolllinie erscheint nicht. Ergebnisse der Tests, die nach der festgelegten Auswertzeit keine Kontrolllinie gebildet haben, müssen verworfen werden. Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Testkit bitte nicht weiter und setzen



Sie sich mit ihrem Distributor in Verbindung.

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

Hinweis: Nachdem sich nach genau 15 Minuten ein positives Ergebnis eingestellt hat, wird sich dieses nicht mehr verändern. Das Testergebnis sollte jedoch nicht nach mehr als 15 Minuten ausgewertet werden, um jegliche falsche Ergebnisse zu vermeiden.

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Trichomonas Vaginalis Test ist auf den Nachweis von *Trichomonas vaginalis* in Abstrichproben beschränkt. Obwohl der Test *Trichomonas vaginalis* sehr akkurat nachweist, können wenige falsche Ergebnisse vorkommen. Werden fragliche Ergebnisse erhalten, sind andere klinisch verfügbare Tests erforderlich.
- Wie mit allen diagnostischen Tests, sollte eine endgültige klinische Diagnose nicht auf den Ergebnissen eines einzelnen Tests beruhen, sondern vom Arzt nach Evaluierung aller klinischen und laborklinischen Befunde gestellt werden.

13. Leistungsmerkmale des Tests

Es wurden Vergleichsstudien unter Verwendung des NADAL® Trichomonas Vaginalis Tests im Vergleich zu traditionellen mikrobiologischen Methoden und einem kommerziell erhältlichen BD Affirm™ Microbial Identification System (USA) durchgeführt.

Sensitivitätstestung des NADAL® Trichomonas Vaginalis Tests im Vergleich zu traditionellen mikrobiologischen Methoden (n = 300):

		Traditionelle mikrobiologische Methoden		
		+	-	Total
NADAL® Trichomonas Vaginalis Test	+	137	4	141
	-	13	146	159
	Total	150	150	300

Relative Sensitivität: 91,3% (137/150)

Relative Spezifität: 97,3% (146/150)

Sensitivitätstestung des NADAL® Trichomonas Vaginalis Tests im Vergleich zum BD Affirm™ Microbial Identification System (n = 300):

		BD Affirm™ Microbial Identification System		
		+	-	Total
NADAL® Trichomonas Vaginalis Test	+	137	7	144
	-	5	151	156
	Total	142	158	300

Relative Sensitivität: 96,5% (137/142)

Relative Spezifität: 95,6% (151/158)

Kreuzreaktivität und Interferenz-Studien

Die Spezifität wurde durch die Untersuchung der Proben von *Trichomonas*-negativen Patienten bestimmt, welche keine anderen, eng verwandten Mikroorganismen enthalten und mit ähnlichen Mikroorganismen (wie in der folgenden Tabelle dargestellt) versetzt wurden. Diese Proben wurden unter Verwendung des NADAL® Trichomonas Vaginalis Tests in Replikaten von 10 getestet. Eine Probe wurde als negativ eingeteilt, wenn keine farbige Testlinie erschien, jedoch die farbige Kontrolllinie innerhalb von 15 Minuten sichtbar wurde. Eine Probe wurde als positiv eingeteilt, wenn sowohl die Kontroll- als auch Testlinie innerhalb von 15 Minuten sichtbar wurden.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

Anzahl der Tests	Versetzte Mikroorganismen in den Proben	Ergebnisse des NADAL® Trichomonas Vaginalis Tests	
		Versetzte <i>Trichomonas</i> -negative Proben	Versetzte <i>Trichomonas</i> -positive Proben
10	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Proteus vulgaris</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Salmonella typhi</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Acinetobacter spp</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Escherichia coli</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Moraxella catarrhalis</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Gardnerella vaginalis</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Streptococcus faecalis</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Neisseria lactamica</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Streptococcus faecium</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Candida albicans</i>	All (-)	All (+)

Potentiell interferierende chemische Substanzen (wie in der folgenden Tabelle dargestellt) wurden klinisch bestimmten negativen normalen Proben zugegeben. Die Proben wurden unter Verwendung des NADAL® Trichomonas Vaginalis Tests in Replikaten von 5 getestet. Eine Probe wurde als negativ eingeteilt, wenn keine farbige Testlinie erschien, jedoch die farbige Kontrolllinie innerhalb von 15 Minuten sichtbar wurde. Eine Probe wurde als positiv eingeteilt, wenn sowohl die Kontroll- als auch Testlinie innerhalb von 15 Minuten sichtbar wurden.

Anzahl der Tests	Potentiell interferierende chemische Substanzen, welche negativen Proben zugegeben wurden	
5	Acetaminophen, 20 mg/dl	Acetylsalicylsäure, 20 mg/dl
5	Ascorbinsäure, 20 mg/dl	Atropin, 20 mg/dl
5	Bilirubin, 60 mg/dl	Koffein, 20 mg/dl
5	Kreatinin, 20 mg/dl	Gentisinsäure, 20 mg/dl
5	Glucose, 2,000 mg/dl	Hämoglobin, 500 mg/dl
5	Ketone, 40 mg/dl	Mestranol, 3 mg/dl
5	Nitrite, 20 mg/dl	Penicillin, 40,000 U/dl
5	Natrium-Heparin, 3 mg/dl	Lithium-Heparin, 3 mg/dl

- World Health Organisation (2001) Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. World Health Organisation, Geneva, Switzerland.
- Ledru S, Meda N, Fofana M, Soula G, Bazie AJ, Chiron JP (1992) Etiologic study of genitourinary infections in women of child bearing age in Bobo-Dioulasso, Burkina Faso Sex Transm Dis; 23(2):151-156.
- Yereli K, Balcioglu IC, Degerli K, Ozbilgin A, Daldal N (1997) Incidence of Trichomonas vaginalis among women having vaginal discharge, in Manisa, Turkey J Egypt Soc Parasitol 27 (3): 905 – 911.

Rev. 0, 2015-08-11 OM/UJ

Eine Reihe von interferierenden chemischen Substanzen (wie in der folgenden Tabelle dargestellt) wurde für eine Hochdosis-Interferenz-Studie ausgewählt. Klinisch bestimmten *Trichomonas*-negativen Proben wurde eine Reihe ausgewählter Hochdosis-Interferenz-Substanzen zugegeben und unter Verwendung des NADAL® Trichomonas vaginalis Tests getestet.

Hochdosis-Interferenz-Studie		
Interferenz-Substanz	Konzentration	Ergebnis (3 Chargen)
Triglyceride	500 mg/ml	-/-/-
Bilirubin	0,1 mg/ml	-/-/-
Prostata-spezifische saure Phosphatase	1000 mIU	-/-/-
Albumin	20 mg/ml	-/-/-

Keine der getesteten Substanzen, die in der obigen Tabelle dargestellt sind, wiesen Interferenzen mit klinisch bestimmten negativen Proben auf. Die negativen Proben, die mit potentiell interferierenden Substanzen versetzt wurden, wiesen durchgehend negative Testergebnisse auf.

Reproduzierbarkeitsstudie

Die Reproduzierbarkeitsstudie wurde an 3 verschiedenen Standorten durchgeführt. Negative, schwach positive und stark positive Proben wurden unter Verwendung von insgesamt 120 NADAL® Trichomonas Vaginalis Test-Kits getestet. Die Proben wurden zweimal am Tag, täglich 20 Tage lang, in 2 verschiedenen Testungen getestet. Dies ermöglichte separate Testläufe „zwischen den Tagen“, „zwischen den Tests“ (Intra-Lot) und „innerhalb eines Tages“, welche konsistente Ergebnisse lieferten.

Reproduzierbarkeitsstudie basierend auf Studienstandorten

Trichomonas Testauswertung (Anzahl der Tests)			
Teststandort	Negativ	Schwach positiv	Stark positiv
1	N (40)	P (40)	P (40)
2	N (40)	P (40)	P (40)
3	N (40)	P (40)	P (40)

Die Testergebnisse an 3 Standorten zeigten eine 100%-ige Übereinstimmung.

14. Referenzen

- Bowden FJ, Garnett GP (2000) Trichomonas vaginalis epidemiology: parameterising and analysis, a model of treatment intervention. Sex Trans Infect 76:248-256.
- Wang CC, McClellandRS, ReillyM, OverbaughJ, EmerySR, MandalayK, Chohan B, Ndinya Acholaj, BwayoJ, Kreiss JK (2001) The effect of treatment of vaginal infection on shedding of immunodeficiency virus type 1. J Infect Dis 183:1017-1022.

1. Intended Use

The NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test is a simple, one step chromatographic immunoassay for the rapid, qualitative detection of *Trichomonas vaginalis* in vaginal swab specimens. This test is intended for use as an aid in the diagnosis of trichomoniasis and designed for professional use only.

2. Introduction and Clinical Significance

Trichomoniasis is a common sexually transmitted infection, which occurs in both men and women, though symptoms are more common in women. It is caused by a protozoan parasite called *Trichomonas vaginalis*. *Trichomonas vaginalis* is pear-shaped and 7-30 µm long. It has five flagella. The large nucleus is usually located at the wider, anterior end and contains many chromatin granules and a small karyosome. The cytoplasm also contains many granules, but these are often not seen in Giemsa-stained specimens.

The most common symptoms of trichomoniasis include:

- Discomfort during intercourse and urination (in both sexes)
- Frothy yellow-green vaginal discharge with a strong, unpleasant odour (in women)
- Irritation and itching of the genital area (in women)
- Rarely, trichomoniasis is associated with lower abdominal pain (in women)

In women, trichomoniasis infection is usually confined to the vagina. However occasionally the microorganisms can also invade the urinary tract and cause cystitis (inflammation of the bladder). Trichomoniasis can be severe enough to cause an abnormal Pap smear, from which the microorganisms also can be detected, and can recur. Although *Trichomonas vaginalis* can cause small red lesions on the cervix, it does not invade the uterus or fallopian tubes, nor does it affect fertility.

There is evidence to suggest that individuals with trichomoniasis are at a higher risk for contracting HIV infection during sexual contact with an HIV-infected partner.

3. Test Principle

The NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test is based on the principle of highly specific binding reactions between antigens and antibodies, which are used for the analysis of specific substances in specimens. Major antibodies and buffers used in the NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test are as follows. Test line region (T): mouse anti-*Trichomonas* antibodies (26 µg/test); control line region (C): polyclonal goat anti-mouse IgG (62 µg/test); conjugate pad: mouse anti-*Trichomonas* antibodies-colloidal gold conjugate (18 µg/test).

The NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test is a sandwich immunoassay. The test cassette contains a nitrocellulose membrane strip with immobilised mouse anti-*Trichomonas* antibodies in the test line region (T). Goat-anti-mouse antibodies are immobilised in the control line region (C).

The sample is added to the specimen well (S) of the test cassette. The gold conjugate pad contains further mouse anti-*Trichomonas* antibodies which are coupled with colloidal gold. The analyte (*Trichomonas* antigen) in the sample reacts with the colloidal gold coupled mouse anti-*Trichomonas* antibodies of the gold conjugate pad, thus forming antigen-antibody-colloidal gold complexes. Meanwhile the liquid moves along the membrane, transporting these complexes by capillary

action supported by the absorption pad to the respective immobilised mouse anti-*Trichomonas* antibodies. Here they are trapped and form a sandwich complex consisting of immobilised antibody-antigen (analyte)-antibody-colloidal gold. Only when the applied sample contains a certain concentration of *Trichomonas* antigen, will the formation of this sandwich complex result in a visible coloured line in the test line region (T) of the membrane. If no *Trichomonas* antigen is present in the sample, no test line will appear in the test line region of the membrane. The gold conjugates continue to migrate to the control line region (C) of the nitrocellulose membrane. There, these conjugates form complexes with the immobilised goat anti-mouse IgG on the membrane resulting in the formation of a coloured control line (C).

The appearance of a coloured line in the control line region serves as a procedural control, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 10 NADAL® *Trichomonas Vaginalis* test cassettes (incl. disposable droppers)
- 10 extraction tubes
- Provided additional material according to 93/42/EEC: 10 swabs CE 0197



Dalian Rongbang Medical Healthy Devices Co., Ltd., Guoyi St, Ganjingzi, Dalian, Liaoning, China (authorised EU representative Yao Tong S.L., Ausiàs March, 92; 08013 Barcelona, Spain)

- 1 extraction buffer
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

- Timer

6. Storage & Stability

NADAL® *Trichomonas Vaginalis* test kits should be stored at 4-30°C and used until the expiration date indicated on the package. NADAL® *Trichomonas Vaginalis* test cassettes are sensitive to humidity as well as to heat.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the test procedure prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the package.
- Do not use the test if the foil pouch is damaged.
- Do not reuse tests.
- Do not add samples to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Avoid splashing or aerosol formation.
- Clean spills thoroughly using an appropriate disinfectant.

- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).

8. Specimen Collection and Preparation

Specimen Collection

Remove a sterile swab from the pouch. Gently open the vaginal opening and insert the swab about 2 – 3 inches (5 - 7.5 cm) into the vagina. Use extreme care if the patient is pregnant. Improper collection may result in poor visual reading of the test and cause invalid results.

Specimen Preparation

- Bring all samples to room temperature prior to testing.
- Add 7 drops of the extraction buffer to the extraction tube. Put the specimen swab into the tube and swirl it vigorously to mix the reagents for about 15 seconds. Then incubate the mixture with the swab in the tube at room temperature for 10 minutes.
- Swirl the swab vigorously for 15 seconds, then expel as much liquid as possible from the swab by rotating and pressing the fiber tip of the swab against the wall of the tube. Discard the swab. Mix the content of the tube by gently swirling the tube. The swab extract should be tested immediately or stored refrigerated.
- If the swab is not extracted immediately, it can be stored refrigerated, preferably in a transportation tube, for up to 5 days. Do not freeze swabs. Swabs may be transported to the test site under ambient conditions. Transport media should not be used.

9. Test Procedure

Bring tests, buffer and specimens to room temperature (15-30°C) prior to testing. The test cassette should remain in the foil pouch until use.

1. Remove the NADAL® *Trichomonas Vaginalis* test cassette from the foil pouch and place it on a flat, dry surface.
2. Holding a disposable dropper above the sample well (S) of the



test cassette, add 4 drops of the extracted specimen to the sample well (S).

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

3. Read the test result after 15 minutes. Do not interpret test results after more than 15 minutes.



10. Result Interpretation

The above stated result interpretation time is based on reading test results at room temperature (15-30°C). If your room temperature is significantly lower than 15°C, then the interpretation time should be properly increased.

Positive:

Two coloured lines appear in the result window. One line appears in the control line region (C) and the other line appears in the test line region (T).



Note: Generally, the higher the analyte level in the specimen is, the stronger the colour of the “T” line will be. When the analyte level in the specimen is close to but still within the sensitivity limit of the test, the colour of the “T” line will be very faint.

Negative:

Only one coloured line appears in the control line region (C). No coloured line appears in the test line region (T).



Invalid:

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



Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for the invalid result.

Note: A positive result will not change once it has been established after exactly 15 minutes. However, in order to prevent any incorrect results, the test result should not be interpreted after more than 15 minutes.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette:

A coloured line appearing 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® *Trichomonas Vaginalis* Test is limited to the detection of *Trichomonas vaginalis* in swab specimens. Although the test is very accurate in detecting *Trichomonas vaginalis*, a low incidence of false results may occur. Other

clinically available tests are required if questionable results are obtained.

- As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the results of a single test, but should only be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

13. Performance Characteristics

Comparison studies were conducted with collected vaginal samples using the NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test in comparison with traditional microbiology methods and with a commercially available BD Affirm™ Microbial Identification System (USA).

Sensitivity testing of the NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test in comparison with traditional microbiology methods (n = 300):

NADAL® <i>Trichomonas Vaginalis</i> Test	Traditional microbiology methods			
		+	-	Total
	+	137	4	141
-	13	146	159	
Total	150	150	300	

Relative sensitivity: 91.3% (137/150)

Relative specificity: 97.3% (146/150)

Sensitivity testing of the NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test in comparison with BD Affirm™ Microbial Identification System (n = 300):

NADAL® <i>Trichomonas Vaginalis</i> Test	BD Affirm™ Microbial Identification System			
		+	-	Total
	+	137	7	144
-	5	151	156	
Total	142	158	300	

Relative sensitivity: 96.5% (137/142)

Relative specificity: 95.6% (151/158)

Cross-reactivity and Interference Studies

Specificity was assessed by studying samples from *Trichomonas* negative subjects, containing no other closely related microorganisms and spiked with similar microorganisms presented in the table below. These samples were tested using the NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test by a replicate of 10. A sample was classified as negative, when no coloured test line appeared but the coloured control line was visible within 15 minutes. A sample was classified as positive, when both the control and test lines were visible within 15 minutes.

The results are presented in the following table:

Number of tests	Microorganisms spiked with samples	Results of NADAL® <i>Trichomonas Vaginalis</i> Test	
		Spiked negative samples to <i>Trichomonas</i>	Spiked positive samples to <i>Trichomonas</i>
10	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Proteus vulgaris</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Salmonella typhi</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Acinetobacter spp</i>	All (-)	All (+)

Number of tests	Microorganisms spiked with samples	Results of NADAL® <i>Trichomonas Vaginalis</i> Test	
		Spiked negative samples to <i>Trichomonas</i>	Spiked positive samples to <i>Trichomonas</i>
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Escherichia coli</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Moraxella catarrhalis</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Gardnerella vaginalis</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Streptococcus faecalis</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Neisseria lactamica</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Streptococcus faecium</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	All (-)	All (+)
10	<i>Candida albicans</i>	All (-)	All (+)

Potentially interfering chemical substances (presented in the table below) were supplemented to clinically defined negative normal specimens. The samples were tested using NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test by a replicate of 5. A sample was classified as negative, when no coloured test line appeared but the coloured control line was visible within 15 minutes. A sample was classified as positive, when both the control and test lines were visible within 15 minutes.

Number of tests done	Potentially interfering chemical substances spiked with negative samples	
5	Acetaminophen, 20 mg/dl	Acetyl salicylic acid, 20 mg/dl
5	Ascorbic acid, 20 mg/dl	Atropine, 20 mg/dl
5	Bilirubin, 60 mg/dl	Caffeine, 20 mg/dl
5	Creatinine, 20 mg/dl	Gentestic acid, 20 mg/dl
5	Glucose, 2,000 mg/dl	Haemoglobin, 500 mg/dl
5	Ketones, 40 mg/dl	Mestranol, 3 mg/dl
5	Nitrite, 20 mg/dl	Penicillin, 40,000 U/dl
5	Sodium heparin, 3 mg/dl	Lithium heparin, 3 mg/dl

A set of interfering chemical substances (presented in the table below) was selected for a high dose interference study. Clinically defined *Trichomonas* negative samples were spiked with the set of selected high dose interference substances and tested using the NADAL® *Trichomonas Vaginalis* Test.

High dose interference study		
Interference Substance	Concentration	Result (3 lots)
Triglyceride	500 mg/ml	-/-
Bilirubin	0.1 mg/ml	-/-
Prostatic acid phosphatase	1000 mIU	-/-
Albumin	20 mg/ml	-/-

None of the tested substances (presented in the table above) showed any interference with clinically defined negative specimens. The negative samples spiked with potentially

interfering substances showed consistently negative test results.

Reproducibility Study

The reproducibility study was carried out on 3 different sites. Negative, weak positive and strong positive samples were tested using 120 NADAL® Trichomonas Vaginalis test kits in total. The samples were tested twice a day, in 2 different assays, daily for 20 days. This allowed for separate tests of between-day, between-assay and within-day, which showed consistent results.

Reproducibility study based on study sites

Trichomonas test readings (number of tests)			
Test sites	Negative	Weak positive	Strong positive
1	N (40)	P (40)	P (40)
2	N (40)	P (40)	P (40)
3	N (40)	P (40)	P (40)

The test results on the 3 sites were in 100% agreement.

14. References

- Bowden FJ, Garnett GP (2000) Trichomonas vaginalis epidemiology: parameterising and analysis, a model of treatment intervention. Sex Trans Infect 76:248-256.
- Wang CC, McClellandRS, ReillyM, OverbaughJ, EmerySR, MandaliyaK, Chohan B, Ndinya Acholaj, Bwayoj,Kreiss JK (2001) The effect of treatment of vaginal infection on shedding of immunodeficiency virus type 1. J Infect Dis 183:1017-1022.
- World Health Organisation (2001) Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. World Health Organisation, Geneva, Switzerland.
- Ledru S, Meda N, Fofana, M, Soula G, Bazie AJ, Chiron JP (1992) Etiologic study of genitourinary infections in women of child bearing age in Bobo-Dioulasso, Burkina FasoSex Transm Dis; 23(2):151-156.
- Yereli K, Balcioglu IC, Degerli K, Ozbilgin A, Daldal N (1997) Incidence of Trichomonas vaginalis among women having vaginal discharge, in Manisa, Turkey J Egypt Soc Parasitol 27 (3): 905 – 911.

Rev. 0, 2015-08-11 OM/UJ

1. Domaine d'application

Le test NADAL® *Trichomonas Vaginalis* est un immunodosage simple et immunochromatographique pour la détection rapide et qualitative de *Trichomonas vaginalis* dans les échantillons vaginaux. Ce test est une aide au diagnostic de la trichomonase. Il est réservé à un usage professionnel.

2. Introduction et signification clinique

La trichomonase est une maladie sexuellement transmissible très largement répandue survenant tant chez les hommes que chez les femmes, bien que les symptômes apparaissent principalement chez les femmes. Cette maladie est engendrée par le protozoaire *Trichomonas vaginalis*. *Trichomonas vaginalis* est une structure piriforme d'une longueur comprise entre 7 et 30 µm. Il porte cinq flagelles. Le gros noyau se situe généralement sur l'extrémité la plus large et contient des petits noyaux de chromatine et un petit caryosome. Le cytoplasme contient également de multiples petits noyaux, cependant ceux-ci ne sont pas visibles au sein des échantillons à coloration Giemsa. Les symptômes les plus fréquents de la trichomonase sont :

- Douleurs pendant les relations sexuelles et lors de la miction
- Écoulements vaginaux malodorants spumeux jaunâtres ou verdâtres (chez la femme)
- Irritations et démangeaisons au niveau des parties génitales
- Dans de rares cas, la trichomonase est associée à des douleurs ressenties dans le bas du ventre (chez la femme)

Chez la femme, l'infection à trichomoniasis ne touche généralement que le vagin. Il arrive néanmoins que les microorganismes s'infiltrent dans les voies urinaires et soient à l'origine d'une cystite (infections urinaires). La trichomonase peut présenter une puissance suffisante et provoquer des résultats de frottis anormaux, permettant ainsi de détecter les microorganismes. Bien que *Trichomonas vaginalis* puisse être à l'origine de petites rougeurs au niveau du col de l'utérus, il ne pénètre pas dans le col de l'utérus ou dans les trompes utérines. De plus, il n'influence pas la fécondité.

Les individus atteints de la trichomonase présentent plus de risques d'infection au VIH lors d'un rapport sexuel avec un individu atteint du VIH.

3. Principe du test

Le test NADAL® *Trichomonas Vaginalis* est basé sur le principe d'une réaction de liaison hautement spécifique entre anticorps et antigènes utilisés pour analyser des substances spécifiques dans les échantillons. Les principaux anticorps et solutions utilisés pour le test NADAL® *Trichomonas Vaginalis* sont les suivants : Zone de la ligne de test (T) : Anticorps de souris anti-trichomonas (26 µg/test); Zone de ligne de contrôle (C) : Anticorps polyclonaux de chèvre anti-IgG de souris (62 µg/test); Tampon de conjugué : Conjugué anticorps- or colloïdal anti-trichomonas de souris (18 µg/test).

Le test NADAL® *Trichomonas Vaginalis* est un immunodosage de type sandwich. La cassette contient une membrane interne en nitrocellulose avec des anticorps de souris anti-*Trichomonas* immobilisés à hauteur de la zone de test (T). Les anticorps de chèvre anti-souris sont immobilisés à hauteur de la zone de contrôle (C).

L'échantillon est déposé dans le puits de dépôt (S) de la cassette. Le tampon de conjugué contient des anticorps de souris anti-*Trichomonas* liés à des particules d'or colloïdal. L'analyte (Antigène *Trichomonas*) présent dans l'échantillon réagit avec les anticorps de souris anti-*Trichomonas* liés à des particules d'or présents dans le tampon de conjugué. Cette réaction génère un complexe antigènes-anticorps-or colloïdal. Le liquide migre le long de la membrane transportant les complexes par la force capillaire, jusqu'aux anticorps de souris anti-*Trichomonas* correspondants. Ils sont alors capturés et produisent un complexe sandwich anticorps-antigènes (analyte)-anticorps-or colloïdal. Dans le cas où l'échantillon ajouté présente une concentration en antigènes *Trichomonas* correspondante, la formation du complexe sandwich génère une ligne de test (T) claire et colorée sur la membrane. Dans le cas où aucun antigène *Trichomonas* n'est présent dans l'échantillon, aucune ligne de test n'apparaît sur la membrane. Le conjugué-or colloïdal continue de migrer par capillarité sur la membrane en nitrocellulose. Ces complexes de conjugués se lient aux anticorps de chèvre anti-souris immobilisés sur la membrane générant une ligne de contrôle (C) colorée.

La ligne de contrôle (C) qui apparaît est une procédure de contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant et que la membrane a été suffisamment imbibée.

4. Matériel fourni

- 10 cassettes NADAL® *Trichomonas Vaginalis* (pipettes à usage unique incluses)
- 10 tubes d'extraction
- Matériel fourni selon 93/42/CE :
10 écouvillons CE 0197



Dalian Rongbang Medical Healthy Devices Co., Ltd.,
Guoyi St, Ganjingzi, Dalian, Liaoning, China
(représentant autorisé UE Yao Tong S.L., Ausiàs March, 92; 08013 Barcelone, Espagne)

- 1 solution d'extraction
- 1 notice d'utilisation

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Chronomètre

6. Péréption et conservation des réactifs

Le kit du test NADAL® *Trichomonas Vaginalis* doit être conservé à une température comprise entre 4 et 30°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage. Les cassettes NADAL® *Trichomonas Vaginalis* sont sensibles à l'humidité et la chaleur.

7. Précautions et mesures de sécurité

- Test réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Veiller à lire attentivement la notice d'utilisation avant de réaliser le test.
- Ne pas utiliser le test après la date de péremption indiquée sur l'emballage.
- Ne pas utiliser le test si l'emballage est endommagé.
- Test à usage unique.
- Ne pas déposer de prélèvement sur la zone réactive (fenêtre de résultats).

- Ne pas toucher la zone réactive afin d'éviter toute contamination.
- Ne pas interchanger ou mélanger le matériel de différents kits.
- Ne pas manger, boire ou fumer à proximité de la zone de manipulation des tests.
- Éviter toute pulvérisation ou déversement d'aérosol.
- Nettoyer le liquide déversé minutieusement avec un désinfectant approprié.
- Utiliser des vêtements de protection tels qu'une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et des lunettes de protection.
- Manipuler les échantillons en les considérant comme de potentiels réactifs infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les manipulations ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.
- Ce test contient des produits d'origine animale. La certification concernant l'origine et l'état sanitaire des animaux ne certifie pas l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Tous les prélèvements et matériaux utilisés pour ce test doivent être considérés comme des matières infectieuses. Il est recommandé d'appliquer les mesures de précaution nécessaire (ne pas avaler ou inhaler).

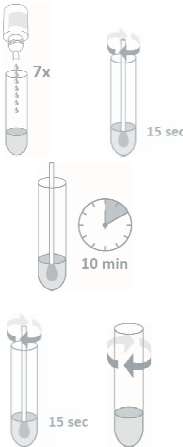
8. Recueil, préparation et conservation des échantillons

Recueil des échantillons

Retirer l'écouvillon stérile de son emballage. Ecarter légèrement les lèvres vaginales et insérer l'écouvillon dans le vagin à environ 5 - 7,5 cm. Être particulièrement prudent lors d'une analyse chez la femme enceinte. Un recueil des échantillons non approprié peut mener à une fausse interprétation visuelle des tests et à des résultats non-valides.

Préparation des échantillons

- Amener tous les échantillons à température ambiante avant la réalisation du test.
- Ajouter 7 gouttes de la solution d'extraction dans le tube d'extraction. Insérer l'écouvillon dans le tube et le faire pivoter énergiquement pendant 15 secondes afin de mélanger les réactifs. Incuber le mélange avec l'écouvillon dans le tube pendant 10 minutes à température ambiante.
- Faire pivoter l'écouvillon pendant 15 secondes énergiquement afin de retirer le plus de liquide possible de l'écouvillon. Faire pivoter la pointe en fibre de l'écouvillon contre les parois du tube. Éliminer l'écouvillon. Mélanger le contenu du tube en faisant pivoter légèrement le tube. L'extrait de l'écouvillon doit être testé immédiatement ou conservé en milieu réfrigéré.
- Dans le cas où l'extraction de l'écouvillon ne puisse être réalisée immédiatement, l'écouvillon doit être conservé en tube de transport jusqu'à 5 jours. Ne pas congeler



l'écouvillon. L'écouvillon peut être transporté jusqu'à la zone de manipulation du test dans les conditions ambiantes. Ne pas utiliser de milieu de transport.

9. Exécution du test

Amener les tests, les solutions et les échantillons à température ambiante (15-30°C). La cassette doit être conservée dans son emballage fermé jusqu'à son utilisation.

1. Retirer la cassette NADAL® Trichomonas Vaginalis de son emballage fermé et la déposer sur une surface plane et propre. Pour un résultat optimal, effectuer le test immédiatement après l'ouverture de l'emballage.

2. Tenir la pipette à la verticale au dessus du puits de dépôt (S) de la cassette et déposer 4 gouttes du mélange dans le puits de dépôt (S).

Au début du test, un liquide coloré migre le long de la membrane.

3. Interpréter les résultats après 15 minutes. Ne plus interpréter les résultats après 15 minutes.



10. Interprétation des résultats

Le temps d'interprétation renseigné ci-dessus n'est fiable que si les tests sont analysés à température ambiante (15-30°C). Dans le cas où la température ambiante est clairement plus faible que 15°C, le temps d'interprétation doit être augmenté.

Positif

Deux lignes de couleurs apparaissent dans la fenêtre de lecture. Une ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de contrôle (C) et une autre ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de test (T).



Remarque : Plus la concentration en analytes est élevée, plus l'intensité de la ligne "T" est forte. Lorsque la concentration en analytes se rapproche de la limite de sensibilité, l'intensité de la ligne "T" sera très faible.

Négatif :

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



Non-valide :

Aucune ligne n'apparaît à hauteur de la zone de contrôle. Les tests sur lesquels aucune ligne de contrôle n'est apparue dans le temps d'évaluation fixé doivent être jetés. Contrôler la procédure d'exécution du test et répéter le test avec une nouvelle cassette. Dans le cas où le problème persiste, ne plus utiliser le test et contacter le distributeur.



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

Remarque : Un résultat positif constaté au bout de 15 minutes n'évoluera plus. Les résultats du test ne devraient cependant pas être interprétés après 15 minutes afin d'éviter tout risque de faux résultats.

11. Contrôle qualité

La cassette contient une procédure de contrôle interne.

La ligne colorée apparaissant au niveau de la zone de contrôle (C) est considérée comme un contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant, que la manipulation a été correctement effectuée et que la membrane a été suffisamment imbibée.

12. Limites du test

- Le test NADAL® Trichomonas Vaginalis est réservé à la détection de *Trichomonas vaginalis* sur les frottis. Bien que le test *Trichomonas vaginalis* soit très précis, il arrive qu'il génère de faux résultats. Dans le cas où le test fournisse des résultats ambigus, il est recommandé de réaliser d'autres analyses à l'aide d'autres méthodes cliniques.
- Comme avec tout test diagnostique, un diagnostic clinique définitif ne devrait pas s'appuyer sur les résultats d'un seul test. Le diagnostic devrait être établi par un médecin après évaluation de toutes les données de laboratoire et cliniques.

13. Performance du test

Des études comparatives ont été menées à l'aide du test NADAL® Trichomonas Vaginalis en comparaison à d'autres méthodes microbiologiques traditionnelles et à un test disponible dans le commerce BD Affirm™ Microbial Identification System (USA).

Analyse de la sensibilité du test NADAL® Trichomonas Vaginalis en comparaison avec des méthodes microbiologiques traditionnelles.

		Méthodes microbiologiques traditionnelles		
		+	-	Total
Test NADAL® Trichomonas Vaginalis	+	137	4	141
	-	13	146	159
	Total	150	150	300

Sensibilité relative : 91,3% (137/150)

Spécificité relative : 97,3% (146/150)

Analyse de la sensibilité du test NADAL® Trichomonas Vaginalis en comparaison avec BD Affirm™ Microbial Identification System (n = 300) :

		BD Affirm™ Microbial Identification System		
		+	-	Total
Test NADAL® Trichomonas Vaginalis	+	137	7	144
	-	5	151	156
	Total	142	158	300

Sensibilité relative : 96,5% (137/142)

Spécificité relative : 95,6% (151/158)

Réactions croisées et Études sur l'interférence

La spécificité a été déterminée grâce à l'analyse d'échantillons de patients négatifs à *Trichomonas*. Ces échantillons ne contiennent pas de microorganismes étroitement liés. Des

microorganismes ont été ajoutés à ces échantillons (comme indiqué dans le tableau ci-dessous). Ces échantillons ont été testés en double sur 10 puits avec le test NADAL® Trichomonas Vaginalis. Un échantillon est considéré négatif quand aucune ligne de test de couleur n'apparaît et que la ligne de contrôle colorée apparaît dans les 15 minutes suivant le dépôt de l'échantillon. Un échantillon est considéré positif lorsque qu'une ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de test et de la zone de contrôle dans les 15 minutes suivant le dépôt de l'échantillon.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Nombre de tests	Microorganisme s ajoutés aux échantillons :	Résultats du test NADAL® Trichomonas Vaginalis	
		Echantillons négatifs <i>Trichomonas</i> avec substances ajoutées	Echantillons positifs <i>Trichomonas</i> avec substances ajoutées
10	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Tous (-)	Tous (+)
10	<i>Proteus vulgaris</i>	Tous (-)	Tous (+)
10	<i>Salmonella typhi</i>	Tous (-)	Tous (+)
10	<i>Acinetobacter spp</i>	Tous (-)	Tous (+)
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	Tous (-)	Tous (+)
10	<i>Escherichia coli</i>	Tous (-)	Tous (+)
10	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Tous (-)	Tous (+)
10	<i>Gardnerella vaginalis</i>	Tous (-)	Tous (+)
10	<i>Streptococcus faecalis</i>	Tous (-)	Tous (+)
10	<i>Neisseria lactamica</i>	Tous (-)	Tous (+)
10	<i>Streptococcus faecium</i>	Tous (-)	Tous (+)
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Tous (-)	Tous (+)
10	<i>Candida albicans</i>	Tous (-)	Tous (+)

Des substances chimiques potentiellement interférentes (comme indiquées dans tableau ci-dessous) ont été ajoutées à des échantillons de patients négatifs testés cliniquement. Les échantillons ont été testés en double sur 5 puits avec le test NADAL® Trichomonas Vaginalis. Un échantillon est considéré négatif lorsqu'aucune ligne de test colorée n'apparaît et que la ligne de contrôle colorée apparaît dans les 15 minutes suivant le dépôt de l'échantillon. Un échantillon est considéré positif lorsqu'une ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de test et de la zone de contrôle dans les 15 minutes suivant le dépôt de l'échantillon.

Nombre de tests	Substances chimiques potentiellement ajoutées à des échantillons positifs et négatifs.	
5	Acétaminophène, 20 mg/dl	Acide acétylsalicylique, 20 mg/dl
5	Acide ascorbique, 20 mg/dl	Atropine, 20 mg/dl

Nombre de tests	Substances chimiques potentiellement ajoutées à des échantillons positifs et négatifs.	
5	Bilirubine, 60 mg/dl	Cofféine, 20 mg/dl
5	Créatinine, 20 mg/dl	Acide gentisique, 20 mg/dl
5	Glucose, 2 000 mg/dl	Hémoglobine, 500 mg/dl
5	Cétone, 40 mg/dl	Méstranol, 3 mg/dl
5	Nitrite, 20 mg/dl	Penicilline, 40 000 U/dl
5	Natrium-Heparine, 3 mg/dl	Lithium-Héparine, 3 mg/dl

- Ledru S, Meda N, Fofana M, Soula G, Bazie AJ, Chiron JP [1992] Etiologic study of genitourinary infections in women of child bearing age in Bobo-Dioulasso, Burkina Faso Sex Transm Dis; 23(2):151-156.
- Yereli K, Balcioglu IC, Degerli K, Ozbilgin A, Daldal N (1997) Incidence of Trichomonas vaginalis among women having vaginal discharge, in Manisa, Turkey J Egypt Soc Parasitol 27 (3): 905 – 911.

Rev. 0, 2015-08-11 PF

Une gamme de substances chimiques interférentes (indiquées dans le tableau ci-dessus) a été choisie pour une étude d'interférences à haute dose. Des substances possiblement interférentes ont été ajoutées à haute dose aux échantillons négatifs à *Trichomonas* testés cliniquement. Ces échantillons ont ensuite été testés avec le test NADAL® Trichomonas vaginalis.

Etudes d'interférence en haute dose		
Substances interférentes	Concentration	Résultats (3 lots)
Triglycéride	500 mg/ml	-/-/-
Bilirubine	0,1 mg/ml	-/-/-
Phosphatase acide spécifiques à la prostate	1000 mIU	-/-/-
Albumine	20 mg/ml	-/-/-

Aucune des substances testées présentées dans le tableau ci-dessus n'indiquent d'interférences avec les échantillons négatifs testés cliniquement. Les échantillons négatifs auxquels ont été ajoutées des substances potentiellement interférentes ont tous indiqué des résultats négatifs.

Etude de la reproductibilité

Les études sur la reproductibilité ont été réalisées sur trois zones de test différentes. Des échantillons négatifs, faiblement positifs, fortement positifs ont été testés avec un total de 120 kits du test NADAL® Trichomonas Vaginalis. Les échantillons ont été testés deux fois par jour, tous les jours pendant 20 jours sur 2 zones différentes. Ceci a permis de réaliser plusieurs sessions de tests "entre les jours", "entre les tests" (intra-lot) et "pendant une journée" et de générer des résultats cohérents.

Etude de la reproductibilité basée sur l'endroit de l'étude.

Interprétation des résultats Trichomonas (Nombre de tests)			
Endroit du test	Négatif	Faiblement positif	Fortement positif
1	N)	P)	P)
2	N)	P)	P)
3	N)	P)	P)

Les résultats des tests réalisés à trois endroits différents ont indiqué une concordance générale de 100%.

14. Bibliographie

- Bowden FJ, Garnett GP (2000) Trichomonas vaginalis epidemiology: parameterising and analysis, a model of treatment intervention. Sex Trans Infect 76:248-256.
- Wang CC, McClellandRS, ReillyM, OverbaughJ, EmerySR, MandalayK, Chohan B, Ndinya Acholaj, BwayoJ, Kreiss JK (2001) The effect of treatment of vaginal infection on shedding of immunodeficiency virus type 1. J Infect Dis 183:1017-1022.
- World Health Organisation (2001) Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. World Health Organisation, Geneva, Switzerland.

1. Uso previsto

El test NADAL® Trichomonas Vaginalis es un inmunoensayo cromatográfico de un sólo paso para la detección rápida y cualitativa de *Trichomonas vaginalis* en muestras de exudados vaginales. Este test está destinado al uso como ayuda en el diagnóstico de tricomoniasis y sólo es apto para el uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

La tricomoniasis es una enfermedad de transmisión sexual común que afecta tanto a hombres como a mujeres, y cuyos síntomas son más conocidos en mujeres. Está causada por un parásito protozoo llamado *Trichomonas vaginalis*. El *Trichomonas vaginalis* es piriforme y mide 7-30 µm de largo. Tiene cinco flagelos. El largo núcleo suele localizarse en el extremo ancho anterior y contiene muchos gránulos de cromatina y un cariosoma pequeño. El citoplasma también contiene muchos gránulos, pero no se suelen ver en las muestras teñidas con Giemsa.

Los síntomas más habituales de tricomoniasis son:

- Molestias durante las relaciones sexuales y la micción (en ambos sexos)
- Flujo vaginal espumoso de color amarillo-verdoso con un fuerte olor desagradable (en mujeres)
- Irritación y picazón del área genital (en mujeres)
- La tricomoniasis puede presentar raramente dolor abdominal bajo (en mujeres)

En mujeres, la infección por tricomoniasis se limita generalmente a la vagina. Sin embargo, a veces los microorganismos pueden invadir el tracto urinario y provocar cistitis (inflamación de la vejiga). La tricomoniasis puede resultar suficientemente grave como para producir una citología vaginal anormal, a partir de la cual los microorganismos y se pueden detectar y repetir. Aunque la *Trichomonas vaginalis* puede ocasionar lesiones rojas pequeñas en el cérvix, no invade el útero ni las trompas de falopio, ni tampoco afecta a la fertilidad.

Algunas evidencias sugieren que los pacientes con tricomoniasis presentan mayor riesgo de contraer la infección por VIH durante el contacto sexual con una persona infectada.

3. Principio del test

El test NADAL® Trichomonas Vaginalis está basado en el principio de reacciones altamente específicas de unión entre antígenos y anticuerpos, que se utilizan para el análisis de sustancias específicas en las muestras. A continuación se presentan los principales anticuerpos y búferes utilizados en este test: región de la línea de test (T): contiene anticuerpos de ratón anti-*Trichomonas* (26 µg/test); región de la línea de control (C): contiene IgG policlonales de cabra anti-ratón (62 µg/test); almohadilla con conjugado: contiene conjugado de anticuerpos de ratón anti-*Trichomonas* con oro coloidal (18 µg/test).

El test NADAL® Trichomonas Vaginalis es un inmunoensayo de tipo sándwich. El casete de test contiene una tira de membrana de nitrocelulosa con anticuerpos de ratón anti-*Trichomonas* inmovilizados en la región de la línea de test (T). Los anticuerpos anti-ratón de cabra están inmovilizados en la región de la línea de control (C).

La muestra se añade al pocillo correspondiente (S) del casete de test. La almohadilla con conjugado de oro contiene anticuerpos anti-*Trichomonas* de ratón emparejados con oro coloidal. El analito (antígeno de *Trichomonas*) reacciona en la muestra con los anticuerpos de ratón anti-*Trichomonas* emparejados con oro coloidal en la almohadilla de conjugado de oro, formando así complejos antígeno-anticuerpo-oro coloidal. Mientras tanto, el líquido se mueve a lo largo de la membrana, transportando esos complejos por capilaridad, reforzado por la almohadilla de absorción, a los respectivos anticuerpos anti-*Trichomonas* de ratón inmovilizados. Allí se quedan atrapados formando complejos de sándwich que consisten en anticuerpos inmovilizados-antígeno (analito)-anticuerpo-oro coloidal. Sólo cuando la muestra añadida contiene una determinada concentración de antígenos de *Trichomonas* resultará la formación de este complejo de sándwich en una línea visible coloreada en el área de la región de test (T) de la membrana. Si la muestra no contiene antígenos de *Trichomonas*, no aparecerá la línea en la región de test de la membrana. Los conjugados de oro siguen migrando hasta la región de la línea de control (C) de la membrana de nitrocelulosa. Allí, estos conjugados forman complejos con los anticuerpos anti-ratón IgG de cabra en la membrana, dando lugar a una línea de control coloreada (C).

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

4. Reactivos y materiales provistos

- 10 casetes de test NADAL® Trichomonas Vaginalis (con pipetas desechables incluidas)
- 10 tubos de extracción
- Material provisto de acuerdo a la 93/42/EEC:
10 hisopos para frotis CE 0197



Dalian Rongbang Medical Healthy Devices Co., Ltd.
Guoyi St, Ganjingzi, Dalian, Liaoning, China
(representante autorizado de la UE Yao Tong S.L., Ausiàs March, 92; 08013 Barcelona, España)

- 1 búfer de extracción
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

Los kits de test NADAL® Trichomonas Vaginalis se deberían almacenar a 4-30°C hasta la fecha de caducidad indicada en el envase. Los casetes de test NADAL® Trichomonas Vaginalis son sensibles a la humedad y al calor.

7. Advertencias y precauciones

- Sólo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No debe utilizar el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.

- No añada la muestra al área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados), a fin de evitar posibles contaminaciones.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits de test.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles.
- Limpie en profundidad los posibles derrames o salpicaduras con un desinfectante.
- Use ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y seguir las precauciones habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).

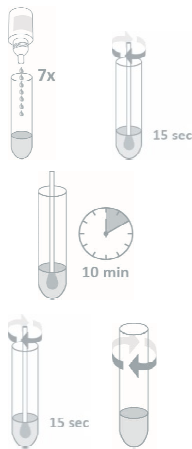
8. Recolección de muestras y preparación

Recolección

Retire un hisopo estéril del envase. Abra bien la apertura vaginal e inserte el hisopo en la vagina hasta 5-7,5 cm. Tenga especial cuidado si la paciente está embarazada. Una recolección incorrecta puede derivar en una mala lectura visual del test, causando resultados no válidos.

Preparación de las muestras

- Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar la prueba.
- Añada 7 gotas del búfer en el tubo de extracción. Ponga el hisopo de la muestra en el tubo y exprímalo bien para mezclar los reactivos durante unos 15 segundos. A continuación, incube la mezcla con el hisopo en el tubo a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Apriete el hisopo fuertemente durante 15 segundos, a continuación retire tanto líquido como sea posible del hisopo rotando y presionando la punta del hisopo contra la pared del tubo. Deseche el hisopo y mezcle el contenido del tubo agitándolo suavemente. El extracto del hisopo se debería analizar inmediatamente o almacenarse refrigerado.
- Si no se extrae el hisopo inmediatamente, se puede almacenar bajo refrigeración, preferiblemente en un tubo de transporte, hasta 5 días. No lo congele. Los hisopos se pueden transportar hasta el lugar de realización del test

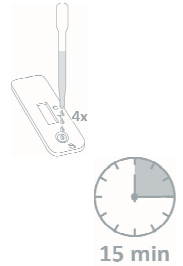


bajo condiciones ambientales. No se deben utilizar medios de transporte.

9. Procedimiento del test

Lleve las muestras y los casetes de test a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba. Mantenga el casete en su envase sellado hasta su uso.

1. Retire el casete de test de su envase y sitúelo sobre una superficie plana y seca. Para obtener mejores resultados, utilice el test inmediatamente después de su apertura.
2. Sujete la pipeta desechable en vertical sobre el pocillo de la muestra (S) del casete de test y añada 4 gotas de la muestra al pocillo (S).



Una vez que el ensayo empiece a funcionar, observará un líquido coloreado que migra a lo largo de la membrana.

3. Lea los resultados del test a los 15 minutos. No interprete los resultados después de 15 minutos.

10. Interpretación del resultado

El tiempo de interpretación de los resultados indicado, está basado en la lectura de los resultados a temperatura ambiente (15-30°C). Si su temperatura ambiente es significativamente inferior a 15°C, se debe aumentar el tiempo de lectura adecuadamente.

Positivo

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



Nota: generalmente, cuanto más alto es el nivel de analitos en la muestra, más fuerte será el color de la línea "T". Cuando el nivel de analitos en la muestra está cercano pero dentro del límite de sensibilidad del test, la intensidad del color de la línea "T" será muy débil.

Negativo:

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



No válido:

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



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

Nota: si a los 15 minutos exactamente se interpreta un resultado como positivo, éste ya no cambiará. Sin embargo,

no se deben interpretar después de más de 15 minutos, a fin de evitar resultados incorrectos.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento:

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

12. Limitaciones

- El test NADAL® Trichomonas Vaginalis está limitado a la detección de *Trichomonas vaginalis* en muestras de exudados. Aunque el test es muy preciso detectando *Trichomonas vaginalis*, puede darse una baja incidencia de resultados falsos. Si se obtienen resultados dudosos, se deben realizar otras pruebas clínicas.
- Al igual que con otros test, un diagnóstico clínico definitivo no se debe basar en los resultados de un único test, sino que debe ser elaborado por un médico tras evaluar todos los hallazgos y pruebas clínicas.

13. Características del rendimiento

Se realizaron estudios de comparación con las muestras vaginales recolectadas utilizando el test NADAL® Trichomonas Vaginalis en comparación con los métodos de microbiología tradicionales y con el método BD Affirm™ Microbial Identification System (EE.UU.) disponible en el mercado.

La sensibilidad del test NADAL® Trichomonas Vaginalis en comparación con los métodos microbiológicos tradicionales (n = 300):

Test NADAL® Trichomonas Vaginalis	Métodos de microbiología tradicional			
		+	-	Total
	+	137	4	141
-	13	146	159	
Total	150	150	300	

Sensibilidad relativa: 91,3% (137/150)

Especificidad relativa: 97,3% (146/150)

Sensibilidad del test en comparación con el BD Affirm™ Microbial Identification System (n = 300):

Test NADAL® Trichomonas Vaginalis	BD Affirm™ Microbial Identification System			
		+	-	Total
	+	137	7	144
-	5	151	156	
Total	142	158	300	

Sensibilidad relativa: 96,5% (137/142)

Especificidad relativa: 95,6% (151/158)

Reacciones cruzadas y estudios de interferencia

La especificidad se estudió analizando muestras negativas de *Trichomonas*, sin contener otros microorganismos y enriquecido con microorganismos similares presentes en la tabla de abajo. Estas muestras se analizaron utilizando el test NADAL® Trichomonas Vaginalis en 10 réplicas. Se estableció que una muestra era negativa cuando a los 15 minutos aparecía la línea coloreada de control (C), pero no aparecía la

línea coloreada de test (T). Se estableció una muestra como positiva cuando la línea de control y la línea de test son visibles a los 15 minutos.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Número de test	Microorganismos añadidos a las muestras	Resultados del test NADAL® Trichomonas Vaginalis	
		Trichomonas añadido a muestras negativas	Trichomonas añadido a muestras positivas
10	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Proteus vulgaris</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Salmonella typhi</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Acinetobacter spp</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Escherichia coli</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Gardnerella vaginalis</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Streptococcus faecalis</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Neisseria lactamica</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Streptococcus faecium</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Todo (-)	Todo (+)
10	<i>Candida albicans</i>	Todo (-)	Todo (+)

Se añadieron sustancias químicas potencialmente interferentes (presentes en la tabla de abajo) a muestras definidas clínicamente como negativas. Las muestras se analizaron utilizando el test NADAL® Trichomonas Vaginalis en 5 réplicas. Se estableció que una muestra era negativa cuando a los 15 minutos aparecía la línea coloreada de control (C), pero no aparecía la línea coloreada de test (T). Se estableció una muestra como positiva cuando la línea de control y la línea de test son visibles a los 15 minutos.

Número de test hechos	Se añadieron sustancias químicas potencialmente interferentes a las muestras negativas	
5	Acetaminofeno, 20 mg/dl	Ácido acetilsalicílico, 20 mg/dl
5	Ácido ascórbico, 20 mg/dl	Atropina, 20 mg/dl
5	Bilirrubina, 60 mg/dl	Cafeína, 20 mg/dl
5	Creatinina, 20 mg/dl	Ácido géntésico, 20 mg/dl
5	Glucosa, 2.000 mg/dl	Hemoglobina, 500 mg/dl
5	Cetonas, 40 mg/dl	Mestranol, 3 mg/dl
5	Nitrito, 20 mg/dl	Penicilina, 40.000 U/dl
5	Heparina de sodio, 3 mg/dl	Heparina de litio, 3 mg/dl

Se seleccionó un grupo de sustancias químicas interferentes (presentes en la tabla de abajo) para un estudio de interferencia por alta dosis. Las muestras de *Trichomonas* definidas clínicamente como negativas se enriquecieron con

las sustancias interferentes seleccionadas de alta dosis y se analizaron con el test NADAL® Trichomonas Vaginalis.

Estudio de interferencia de alta dosis		
Sustancia de interferencia	Concentración	Resultado (3 lotes)
Triglicérido	500 mg/ml	-/-/-
Bilirrubina	0,1 mg/ml	-/-/-
Fosfatasa ácida prostática	1000 mUI	-/-/-
Albúmina	20 mg/ml	-/-/-

Ninguna de las sustancias analizadas (mostradas en la tabla siguiente) presenta ninguna interferencia con las muestras definidas clínicamente como negativas. Las muestras negativas a las que se añadieron sustancias potencialmente interferentes mostraron resultados negativos consistentes.

Estudios de reproductibilidad

Los estudios de reproductibilidad se llevaron a tres lugares diferentes. Se analizaron muestras negativas, positivas débiles y fuertes positivas utilizando en total 120 kits de test NADAL® Trichomonas Vaginalis. Las muestras se analizaron dos veces al día, en dos diferentes pruebas, diariamente durante 20 días. Esto permitió pruebas separadas entre días, entre pruebas (intralote) y en un mismo día, mostrando resultados consistentes.

Estudios de reproductibilidad basados en los lugares de estudio

Lecturas del test de trichomonas (número de pruebas)			
Lugares de test	Negativo	Positivo débil	Fuerte positivo
1	N (40)	P (40)	P (40)
2	N (40)	P (40)	P (40)
3	N (40)	P (40)	P (40)

Los resultados del test en los 3 sitios presentaron una concordancia del 100%.

14. Referencias

- Bowden FJ, Garnett GP (2000) Trichomonas vaginalis epidemiology: parameterising and analysis, a model of treatment intervention. Sex Trans Infect 76:248-256.
- Wang CC, McClellandRS, ReillyM, OverbaughJ, EmerySR, MandaliyaK, Chohan B, Ndinya Aholaj, Bwayoj,Kreiss JK (2001) The effect of treatment of vaginal infection on shedding of immunodeficiency virus type 1. J Infect Dis 183:1017-1022.
- World Health Organisation (2001) Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. World Health Organisation, Geneva, Switzerland.
- Ledru S, Meda N, Fofana, M, Soula G, Bazie AJ, Chiron JP (1992) Etiologic study of genitourinary infections in women of child bearing age in Bobo-Dioulasso, Burkina FasoSex Transm Dis; 23(2):151-156.
- Yereli K, Balcioglu IC, Degerli K, Ozbilgin A, Dalal N (1997) Incidence of Trichomonas vaginalis among women having vaginal discharge, in Manisa, Turkey J Egypt Soc Parasitol 27 (3): 905 – 911.

Rev. 0, 2015-08-11 MP

1. Zastosowanie

Test NADAL® Trichomonas Vaginalis jest prostym, immunochromatograficznym jednostopniowym testem do szybkiego, jakościowego wykrycia *Trichomonas vaginalis* w waginalnych próbkach wymazu. Test ten służy, jako środek pomocniczy przy diagnozie rzęśstkwicy i przeznaczony jest wyłącznie do profesjonalnego użytku.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Rzęśstkwica jest szeroko rozpowszechnioną infekcją przenoszoną drogą płciową, która występuje zarówno u mężczyzn i u kobiet, choć objawy są częstsze u kobiet. Wywoływana jest przez pasożytnicze pierwotniaki zwane *Trichomonas vaginalis*. *Trichomonas vaginalis* ma kształt gruszki i długość 7-30 µm. Ma 5 wici. Duże jądro znajduje się zwykle na szerszym, przednim końcu i zawiera wiele ziarenek chromatyny oraz mały kariosom. Cytoplazma zawiera również dużo granulek, jednak te są niewidoczne w zabarwionych próbkach Giemsa.

Najczęstsze objawy rzęśstkwicy to:

- Dyskomfort podczas stosunku i oddawania moczu (u obu płci)
- Pieniste, żółto-zielone upławy o silnym, nieprzyjemnym zapachu (u kobiet)
- Podrażnienie i swędzenie w okolicy narządów płciowych (u kobiet)
- W rzadkich przypadkach, rzęśstkwica powiązana jest z bólem podbrzusza (u kobiet)

U kobiet, zakażenia rzęśstkwicą zwykle ograniczone są wyłącznie do pochwy. Jednakże, mikroorganizmy mogą czasami przedostać się do dróg moczowych, powodując zapalenie pęcherza. Rzęśstkwica może być wystarczająco silna, aby spowodować nieprawidłowy wymaz z szyjki macicy, skąd mikroorganizmy mogą być również wykryte i może pojawić się ponownie. Pomimo tego, że *Trichomonas vaginalis* może wywołać małe czerwone zmiany na szyjce macicy, nie przenika ona do szyjki macicy lub jajowodów, a płodność nie zostaje osłabiona.

Istnieją dowody na to, że osoby z rzęśstkwicą narażone są na większe ryzyko zakażenia HIV podczas kontaktu seksualnego z partnerem zarażonym HIV.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Trichomonas Vaginalis oparty jest na wysoko specyficznych reakcjach wiązań pomiędzy antygenami i przeciwciałami, które użyte zostały do analizy specyficznych substancji w próbkach. Główne przeciwciała i główne bufony, które zostały zastosowane w teście NADAL® Trichomonas Vaginalis to: obszar linii testowej (T): przeciwciała anti-mysie *Trichomonas* (26 µg/test); obszar linii kontrolnej (C): kozie przeciwciała poliklonalne anti-mysie IgG (62 µg/test); płytka koniugatu: przeciwciała anti-mysie *Trichomonas* koniugaty koloidalnego złota (18 µg/test).

Test NADAL® Trichomonas Vaginalis jest badaniem immunologicznym typu „Sandwich”. Kasetka testowa zawiera nitrocelulozowy pasek membranowy z unieruchomionymi przeciwciałami anti-mysimi przeciwko *Trichomonas* w obszarze linii testowej (T). Kozie przeciwciała anti-mysie unieruchomione są w obszarze linii kontrolnej (C).

Próbka dodawana jest do zagłębienia próbki (S) na kasecie testowej. Płytką z koniugowanym złotem zawiera kolejne przeciwciała anti-mysie przeciwko *Trichomonas*, które sprężone są z koloidalnym złotem. Analit (antygen *Trichomonas*) w próbce, reaguje ze sprężonymi złotem przeciwciałami anti-mysimi przeciwko *Trichomonas* płytki skoniugowanego złota, przez co powstają kompleksy antygen-przeciwciała koloidalnego złota. Ciecz wędruje wzdłuż membrany i transportuje te kompleksy do odpowiednich unieruchomionych przeciwciał anti-mysich przeciwko *Trichomonas* przy pomocy siły kapilarnej, która jest wspierana przez płytkę absorbującą. Tutaj zostają one wychwycone i wytwarzają kompleks typu Sandwich, składający się z unieruchomionych przeciwciał-antygenów (analit)-przeciwciała-koloidalne złoto. Tylko wtedy, gdy dodana próbka zawiera odpowiednie stężenie antygenu *Trichomonas*, wytworzenie się tego kompleksu typu Sandwich spowoduje powstanie widocznej, kolorowej linii w obszarze linii testowej (T) na membranie. Jeżeli w próbce niezawarty jest antygen *Trichomonas*, to w obszarze linii testowej na membranie nie pojawi się linia testowa. Koniugaty złota wędrują dalej do obszaru linii kontrolnej (C) na membranie nitrocelulozowej. Tam koniugaty wytwarzają kompleksy z unieruchomionymi kozimi przeciwciałami anti-mysimi IgG na membranie, przez co wytwarza się kolorowa linia kontrolna (C).

Pojawienie się kolorowej linii w obszarze linii kontrolnej (C) służy jako kontrola procesowa i wskazuje na to, że dostarczona została wystarczająca ilość próbki, a membrana jest wystarczająco nasączona.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 10 testów kasetowych NADAL® Trichomonas Vaginalis (wraz z jednorazowymi pipetami)
- 10 próbek ekstrakcyjnych
- Materiał dodatkowy, dostarczony zgodnie z dyrektywą 93/42/EWG:
10 wacików wymazu CE 0197



Dalian Rongbang Medical Healthy Devices Co., Ltd., Guoyi St, Ganjingzi, Dalian, Liaoning, China (upoważniony przedstawiciel UE Yao Tong S.L., Ausiàs March, 92; 08013 Barcelona, Spain)

- 1 bufor ekstrakcyjny
- 1 instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Zestawy testowe NADAL® Trichomonas Vaginalis powinny być przechowywane w temperaturze 4-30°C i stosowane do daty użyteczności podanej na opakowaniu. Testy kasetowe NADAL® Trichomonas Vaginalis są wrażliwe na wilgoć i ciepło.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone.

- Nie używać ponownie tych samych testów.
- Nie należy pipetować próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Nie jeść, nie pić i nie palić papierosów w obszarze, w którym pracuje się z próbkami oraz zestawami testowymi.
- Unikać rozpryskiwania lub powstawania aerozoli.
- Dokładnie wytrzeć wylane ciecze za pomocą odpowiedniego środka dezynfekującego.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odczynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów, jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Test ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie zupełnie gwarantują braku przenoszonych patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Postępując się nimi należy przestrzegać standardowych środków ostrożności, np. unikać połknięcia lub wdychania).

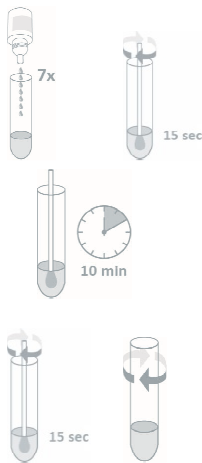
8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Pobranie próbki

Wyciągnąć sterylny wacik do wymazu z opakowania. Rozchylić ostrożnie wejście do pochwy i wprowadzić wacik na ok 5 - 7,5 cm do pochwy. Należy zachować szczególną ostrożność, gdy pacjentka jest w ciąży. Niewłaściwe pobranie próbki może prowadzić do nieprawidłowej wizualnej interpretacji testu i spowodować nieważne wyniki.

Przygotowanie próbki

- Przed przeprowadzeniem badania doprowadzić wszystkie próbki do temperatury pokojowej.
- Dodać 7 kropli buforu ekstrakcyjnego do próbki ekstrakcyjnej. Włożyć wacik z próbką wymazu do próbki i przekręcić go mocno, w celu wymieszania na ok. 15 sekund. Inkubować mieszaninę z wacikiem wymazu w próbce na 10 minut przy temperaturze pokojowej.
- Energicznie obracać wacik wymazu przez 15 sekund i wcisnąć z wacika tyle dużo cieczy, ile jest to możliwe, poprzez obrót końcówki włókna wacika wymazu i przyciśnięcie go do ścianki próbki. Należy zutilizować wacik wymazu. Wymieszać zawartość próbki, poprzez jej delikatnie przechylenie. Wyciąg z wacika wymazu badać



niezwłocznie lub przechowywać w schłodzonej postaci.

- Jeżeli wacik do wymazu nie może zostać bezpośrednio wyekstrahowany, powinien on zostać schłodzony, najlepiej w rurce transportowej i przechowywany do 5 dni. Nie zamrażać wacika do wymazu. Wacik do wymazu może być przetransportowany przy warunkach otoczenia do miejsca przeprowadzenia badania. Nie stosować podłoży transportowych.

9. Przeprowadzanie testu

Przed przeprowadzeniem badania, doprowadzić testy, bufor i próbki do temperatury pokojowej (15-30°C). Test kasetowy powinien pozostać w zamkniętym opakowaniu foliowym do momentu jego użycia.

1. Wyciągnąć kasetę testową NADAL® Trichomonas Vaginalis z zamkniętego opakowania foliowego i położyć ją na suchą i równą powierzchnię. Najlepsze wyniki zostają osiągnięte, gdy test przeprowadzony zostaje bezpośrednio po jego otwarciu.



2. Trzymać jednorazową pipetę pionowo nad zagłębieniem próbki kasety testowej (S) i dodać 4 wiszące krople wyekstrahowanej próbki do zagłębienia na próbki (S).

Jeżeli test się rozpocznie, zaobserwować jak kolorowa ciecz wędruje wzdłuż membrany.



3. Wynik należy interpretować po upływie 15 minut. Nie interpretować wyników po upływie więcej jak 15 minut.

10. Interpretacja wyników

Powyżej podany czas interpretacji wyniku oparty jest na interpretowaniu wyników przy temperaturze pokojowej (15-30°C). Jeżeli temperatura jest znacznie niższa niż 15°C, to czas oczekiwania powinien się odpowiednio wydłużyć.

Pozytywny

W polu wyników pojawiają się dwie kolorowe linie. Jedna linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej (C), druga kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej (T).



Wskazówka: Im wyższe jest stężenie analitu w próbce, tym mocniejsza jest intensywność koloru linii "T". Jeżeli koncentracja analitu jest słaba i znajduje się na granicy czułości testu, to intensywność koloru linii "T" będzie bardzo słaba.

Negatywny

W obszarze linii kontrolnej (C) pojawia się kolorowa linia. W obszarze linii testowej (T) nie pojawia się kolorowa linia.



Nieważny

Linia kontrolna nie pojawia się. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytworzyły linii kontrolnej, muszą zostać odrzucone. Sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowej kasetki testowej. Jeżeli problem



będzie występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniejszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej.

Wskazówka: Jeżeli po 15 minutach pojawił się wynik pozytywny, wynik już się nie zmienia. Wynik testu nie powinien być interpretowany po upływie więcej niż 15 minut, aby uniknąć jakichkolwiek niewłaściwych wyników.

11. Kontrola jakości

Test kasetowy zawiera wewnętrzną kontrolę:

Pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) kolorowa linia, traktowana jest jako kontrola procesowa. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające naszczenie membrany.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Trichomonas Vaginalis ograniczony jest do wykrywania *Trichomonas vaginalis* w próbkach wymazu. Pomimo tego, że test bardzo właściwie oznacza *Trichomonas vaginalis*, mogą pojawić się fałszywe wyniki. Jeżeli uzyskane zostaną wątpliwe wyniki, wymagane są inne dostępne kliniczne badania.
- Jak przy wszystkich testach diagnostycznych, ostateczna kliniczna diagnoza nie powinna opierać się wyłącznie na wynikach pojedynczego testu, tylko być postawiona przez lekarza po ewaluacji wszystkich klinicznych i laboratoryjnych wyników.

13. Charakterystyka testu

Przeprowadzone zostały badania porównawcze testu NADAL® Trichomonas Vaginalis w porównaniu do tradycyjnych mikrobiologicznych metod oraz komercyjnie dostępnym BD Affirm™ Microbial Identification System (USA).

Badanie czułości testu NADAL® Trichomonas Vaginalis w porównaniu do tradycyjnych mikrobiologicznych metod (n = 300):

Test NADAL® Trichomonas Vaginalis	Tradycyjne mikrobiologiczne metody			Suma
		+	-	
	+	137	4	
-	13	146	159	
Suma	150	150	300	

Relatywna czułość: 91,3% (137/150)

Relatywna swoistość: 97,3% (146/150)

Badanie czułości testu NADAL® Trichomonas Vaginalis w porównaniu do BD Affirm™ Microbial Identification System (n = 300)

Test NADAL® Trichomonas Vaginalis	BD Affirm™ Microbial Identification System			Suma
		+	-	
	+	137	7	
-	5	151	156	
Suma	142	158	300	

Relatywna czułość: 96,5% (137/142)

Relatywna swoistość: 95,6% (151/158)

Reakcje krzyżowe i badania interferencyjne

Swoistość została oznaczona przez badanie negatywnych próbek *Trichomonas* pacjentów, które nie zawierały żadnych innych, ściśle spokrewnionych mikroorganizmów i nie były rozcieńczone z podobnymi mikroorganizmami (tak jak przedstawiono w następującej tabeli). Próbki te zostały przebadane przy zastosowaniu testu NADAL® Trichomonas Vaginalis w 10 replikacjach. Próbka została oznaczona, jako negatywna, jeżeli nie pojawiła się kolorowa linia testowa, a kolorowa linia kontrolna stała się widoczna w ciągu 15 minut. Próbka została oznaczona, jako pozytywna, jeżeli zarówno linia kontrolna jak i linia testowa, stały się widoczne w przeciągu 15 minut.

Wyniki przedstawione zostały w poniższej tabeli:

Ilość testów	Rozcieńczone mikroorganizmy w próbkach	Wyniki testu NADAL® Trichomonas Vaginalis	
		Rozcieńczone negatywne próbki <i>Trichomonas</i>	Rozcieńczone pozytywne próbki <i>Trichomonas</i>
10	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)
10	<i>Proteus vulgaris</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)
10	<i>Salmonella typhi</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)
10	<i>Acinetobacter spp</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)
10	<i>Escherichia coli</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)
10	<i>Moraxella catarrhalis</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)
10	<i>Gardnerella vaginalis</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)
10	<i>Streptococcus faecalis</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)
10	<i>Neisseria lactamica</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)
10	<i>Streptococcus faecium</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)
10	<i>Candida albicans</i>	Wszystkie (-)	Wszystkie (+)

Potencjalnie zakłócające substancje chemiczne (jak przedstawiono w poniższej tabeli) zostały dodane oznaczonym klinicznie negatywnym normalnym próbkom. Próbki zostały przebadane przy zastosowaniu testu NADAL® Trichomonas Vaginalis w 5 powtórzeniach. Próbka została oznaczona, jako negatywna, jeżeli nie pojawiła się kolorowa linia testowa, a kolorowa linia kontrolna stała się widoczna w ciągu 15 minut. Próbka została oznaczona, jako pozytywna, jeżeli zarówno linia kontrolna jak i linia testowa, stały się widoczne w ciągu 15 minut.

Ilość testów	Potencjalnie zakłócające substancje chemiczne, które zostały dodane do negatywnych próbek	
5	Paracetamol, 20 mg/dl	Kwas acetylosalicylowy, 20 mg/dl
5	Kwas askorbinowy, 20 mg/dl	Atropina, 20 mg/dl
5	Bilirubina, 60 mg/dl	Kofeina, 20 mg/dl
5	Kreatynina, 20 mg/dl	Kwas gentyzynowy, 20 mg/dl
5	Glukoza, 2,000 mg/dl	Hemoglobina, 500 mg/dl
5	Ketony, 40 mg/dl	Mestranol, 3 mg/dl
5	Nitryt, 20 mg/dl	Penicylina, 40,000 U/dl
5	Heparyna sodowa, 3 mg/dl	Heparyna litowa, 3 mg/dl

- World Health Organisation (2001) Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. World Health Organisation, Geneva, Switzerland.
- Ledru S, Meda N, Fofana, M, Soula G, Bazie AJ, Chiron JP (1992) Etiologic study of genitourinary infections in women of child bearing age in Bobo-Dioulasso, Burkina Faso Sex Transm Dis; 23(2):151-156.
- Yereli K, Balcioglu IC, Degerli K, Ozbilgin A, Daldal N (1997) Incidence of Trichomonas vaginalis among women having vaginal discharge, in Manisa, Turkey J Egypt Soc Parasitol 27 (3): 905 – 911.

Rev. 0, 2015-08-11 AM

Szereg zakłócających substancji chemicznych (przedstawionych w tabeli poniżej) został wybrany dla badania interferencji wysokich dawek. Klinicznie oznaczonym negatywnym próbkom *Trichomonas* dodany został rząd wybranych substancji interferencji wysokich dawek i próbki przetestowane zostały przy użyciu testu NADAL® Trichomonas vaginalis.

Badanie interferencji wysokich dawek		
Substancje zakłócające	Stężenie	Wynik (3 serie)
Triglicerydy	500 mg/ml	-/-/-
Bilirubina	0,1 mg/ml	-/-/-
Kwaśna fosfataza prostaty	1000 mIU	-/-/-
Albumina	20 mg/ml	-/-/-

Żadna z przebadanych substancji, wymieniona w tabeli powyżej, nie wykazała zakłóceń z klinicznie określonymi negatywnymi próbkami. Negatywne próbki, które rozcieńczone zostały z potencjalnie zakłócającymi substancjami, wykazują stale negatywne wyniki testów.

Badanie reproduktywności

Badanie powtarzalności zostało przeprowadzone w trzech różnych lokalizacjach. Negatywne, słabo pozytywne i silnie pozytywne próbki przebadane zostały przy zastosowaniu w sumie 120 zestawów testowych NADAL® Trichomonas Vaginalis. Próbki badane były 2 razy na dzień, przez 20 dni, w 2 różnych testach. Umożliwiło to niezależne przeprowadzenie testów "pomiędzy dniami", "pomiędzy testami" (Intra Lot) i w "ciągu jednego dnia", które dostarczyły spójne wyniki.

Badanie powtarzalności oparte na lokalizacjach badań

Interpretacja wyników Trichomonas (Ilość testów)			
Miejsce wykonania badania	Negatywny	Słabo pozytywny	Mocno pozytywny
1	N (40)	P (40)	P (40)
2	N (40)	P (40)	P (40)
3	N (40)	P (40)	P (40)

Wyniki testów w 3 lokalizacjach wykazały 100% zgodności.

14. Bibliografia

- Bowden FJ, Garnett GP (2000) Trichomonas vaginalis epidemiology: parameterising and analysis, a model of treatment intervention. Sex Trans Infect 76:248-256.
- Wang CC, McClellandRS, ReillyM, OverbaughJ, EmerySR, Mandalayak, Chohan B, Ndinya Acholaj, Bwayoj,Kreiss JK (2001) The effect of treatment of vaginal infection on shedding of immunodeficiency virus type 1. J Infect Dis 183:1017-1022.

1. Účel použití

Test NADAL® *Trichomonas Vaginalis* je jednoduchý, jedнокrokový imunochromatografický test pro rychlou kvalitativní detekci *Trichomonas vaginalis* ze vzorku z vaginálního výtěru. Test slouží k včasnému stanovení diagnózy Trichomoniázy a je určen pouze k profesionálnímu použití.

2. Úvod a klinický význam

Trichomoniáza je běžná pohlavně přenosná infekce, která se vyskytuje u mužů i žen, symptomy jsou však častější u žen. Je způsobena cizopasným prvokem *Trichomonas vaginalis*. *Trichomonas vaginalis* má hruškovitý tvar a je 7-30 µm dlouhý. Má pět bičíků. Velké jádro je obvykle umístěné v širší, přední části a obsahuje mnoho chromatinových granulí a malý karyosom. Cytoplasma rovněž obsahuje mnoho granulí, ale tyto nejsou často viditelné ve vzorcích barvených Giemsovým barvivem.

Mezi nejběžnější symptomy trichomoniázy patří:

- Nepříjemné pocity během pohlavního styku a močení (v případě obou pohlaví)
- Zpěnění žlutozelený vaginální výtok se silným nepříjemným zápachem (u žen)
- Podráždění a svědění v oblasti genitálií (u žen)
- Ojediněle způsobuje trichomoniáza bolesti v podbříšku (u žen)

U žen je infekce trichomoniázu obvykle omezena na vagínu. Mikroorganismy však někdy mohou napadnout močové cesty a způsobit zánět močového měchýře. Trichomoniáza může být natolik závažná, že zapříčiní abnormální Pap test, z kterého mohou tyto mikroorganismy být zjištěny a může se vyskytnout opakovaně. Ačkoli *Trichomonas vaginalis* může způsobovat malé červené léze na děložním hrdle, nenapadá dělohu ani vejcovody, a proto nemůže ovlivnit plodnost.

Existují důkazy, které naznačují, že jedinci nakažení trichomoniázu jsou vystaveni většímu riziku nákazy HIV během sexuálního styku s partnerem nakaženým HIV.

3. Princip testu

Test NADAL® *Trichomonas Vaginalis* je založený na principu vysoce specifických vazebných reakcí mezi antigeny a protilátkami, které se používají pro analýzu specifických substancí ve vzorku. Hlavní protilátky a pufrы použité v testu NADAL® *Trichomonas Vaginalis* jsou následující. Oblast testovací linie (T): myší protilátky proti *Trichomonas* (26 µg/test); Oblast kontrolní linie (C): Polyklonální kozi protimýši IgG (62 µg/test); Konjugační podložka: konjugát myších protilátek proti *Trichomonas* a koloidního zlata (18 µg/test).

Test NADAL® *Trichomonas Vaginalis* je sendvičový imunotest. Testovací kazeta obsahuje proužek s nitrocelulózovou membránou obsahující imobilizované myší protilátky proti *Trichomonas* v oblasti testovací linie (T). Kozí-proti-mýši protilátky jsou imobilizovány v oblasti kontrolní linie (C).

Vzorek je přidán do otvoru pro vzorek (S) na testovací kazetě. Podložka se zlatým konjugátem obsahuje další myší protilátky proti *Trichomonas*, které se vážou s koloidním zlatem. Analyt (antigen *Trichomonas*) ve vzorku reaguje s myšími protilátkami proti *Trichomonas* spojenými s koloidním zlatem na podložce se zlatým konjugátem, čímž utváří komplex sestávající z antigenu, protilátky a koloidního zlata. Mezitím tekutina putuje

membránou a přepravuje tyto komplexy kapilárními silami podporovavými absorpční podložkou k příslušným imobilizovaným myším protilátkám proti *Trichomonas*. Zde jsou zachyceny a utvářejí sendvičový komplex sestávající z imobilizovaných komplexů protilátka-antigen (analyt)-protilátka-koloidní zlato. Pouze pokud nanešený vzorek obsahuje určité množství antigenu *Trichomonas*, má vytvoření tohoto sendvičového komplexu za následek zobrazení viditelné barevné linie v oblasti testovací linie (T) na membráně. Pokud ve vzorku není přítomen žádný antigen *Trichomonas*, tak se neobjeví testovací linie v oblasti testovací linie na membráně. Konjugáty zlata putují dále do oblasti kontrolní linie (C) na nitrocelulózové membráně. Tam tyto konjugáty utvářejí komplexy s imobilizovaným kozím protimýším IgG na membráně, což má za následek vytvoření barevné kontrolní linie (C).

Zobrazení barevné linie v oblasti kontrolní linie slouží jako procedurální kontrola indikující, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku a že membrána funguje správně.

4. Činidla a dodávané materiály

- 10 NADAL® *Trichomonas Vaginalis* testovacích kazet (vč. jednorázových pipet)
- 10 extrakčních zkumavek
- Další dodávaný materiál podle 93/42/EEC:
10 tamponů pro výtěr CE 0197



Dalian Rongbang Medical Healthy Devices Co., Ltd.

Guoyi St, Ganjingzi, Dalian, Liaoning, China
(authorised EU representative Yao Tong S.L., Ausiàs March, 92; 08013 Barcelona, Spain)

- 1 extrakční pufr
- 1 návod k použití

5. Další potřebný materiál

- Stopky

6. Skladování a trvanlivost

Test NADAL® *Trichomonas Vaginalis* by měl být skladován při teplotě 4-30°C a měl by být použit před datem expirace uvedeném na obalu. Testovací kazety NADAL® *Trichomonas Vaginalis* jsou citlivé na vlhkost a teplotu.

7. Bezpečnostní opatření

- Pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.
- Před testováním si pečlivě přečtěte návod k použití.
- Nepoužívejte test po uplynutí data expirace, které je uvedeno na obalu.
- Test nepoužívejte, je-li ochranná fólie poškozena.
- Pouze k jednorázovému použití.
- Nenanašujte vzorek do reakční oblasti (výsledková oblast).
- Aby se zamezilo kontaminaci, nedotýkejte se reakční oblasti (výsledková oblast).
- Nezaměňujte a nemichejte komponenty z různých testovacích sad.
- V místě provádění testu nejzte, nepijte ani nekuřte.
- Vyvarujte se rozstříknutí nebo vytvoření aerosolu.
- Skvrny pečlivě umyjte pomocí vhodného dezinfekčního prostředku.

- Během testování vzorků používejte ochranný oděv jako laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle.
- Se všemi vzorky zacházejte, jako kdyby byly infekční. V průběhu všech testovacích kroků dodržujte zavedená opatření pro prevenci mikrobiologických rizik a řiďte se standardními předpisy pro správnou likvidaci vzorků.
- Testovací souprava obsahuje produkty živočišného původu. Znalost původu a/nebo zdravotního stavu zvířat doložená certifikátem zcela nezaručuje absenci přenosných patogenů. Je proto doporučeno s těmito produkty zacházet jako s potenciálně infekčními a dodržovat běžná bezpečnostních opatření (např. nepolykejte nebo nevedčujte).

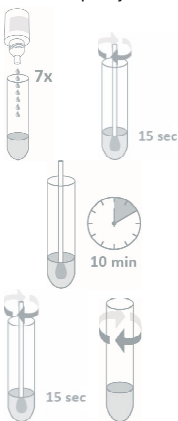
8. Odběr a příprava vzorku

Odběr vzorku

Vyjměte sterilní tampón z fólie. Opatrně otevřete poševní vchod a vložte tampón asi 5 - 7,5 cm do pochvy. Postupujte velice opatrně, pokud je pacientka těhotná. Nesprávné odebrání vzorku může vést ke komplikacím při odečítání testu a způsobit neplatnost výsledku.

Příprava vzorku

- Před testováním nechte vzorky dosáhnout pokojové teploty.
- Přidejte 7 kapek extrakčního pufru do extrakční zkumavky. Vložte tampón se vzorkem do zkumavky a pohybujte s ním rázně kruhovým pohybem po dobu 15 vteřin, aby se činidla promíchala. Poté směs s tampónem nechte inkubovat ve zkumavce při pokojové teplotě po dobu 10 minut.
- Pohybujte s tampónem rázně kruhovým pohybem po dobu 15 vteřin a poté z něj vymačkejte co nejvíce tekutiny tak, že jej budete otáčet a tlačít proti stěně zkumavky. Tampón zlikvidujte. Obsah zkumavky zamíchejte lehkým kruhovým pohybem. Extrakt z tampónu by měl být testován ihned nebo skladován v chladničce.
- Pokud tampón není extrahován ihned, může být skladován v chladničce (nejlépe v transportní zkumavce) až 5 dní. Tampóny nezmrázujte. Tampóny mohou být přepravovány k místu testování za normálních podmínek. Transportní média by neměla být použita.



extrahovaného vzorku do otvoru na vzorek (S).

Jakmile se spustí testovací proces, uvidíte jak barevná tekutina vzlíná membránou.

3. Výsledek odečtete po 15 minutách. Po více než 15 minutách již výsledek neodečítejte.



10. Vyhodnocení výsledků

Výše uvedený čas pro odečítání výsledků platí pro odečítání při pokojové teplotě (15-30°C). Pokud je pokojová teplota výrazně nižší než 15°C, tak by čas pro odečítání výsledků testu měl být náležitě prodloužen.

Positivní:

Ve výsledkové oblasti se zobrazí dvě linie. Jedna linie se zobrazí v oblasti kontrolní linie (C) a druhá linie se zobrazí v oblasti testovací linie (T).



Poznámka: Obecně platí, že čím vyšší je koncentrace analytu ve vzorku, tím silnější bude barevná linie "T". Pokud se koncentrace analytu ve vzorku blíží hranici citlivosti, ale stále se pohybuje nad hranici detekce testu, bude barevná linie "T" velmi slabě zbarvená.

Negativní:

Zobrazí se pouze jedna barevná linie v oblasti kontrolní linie (C). Nezobrazí se žádná barevná linie v testovací oblasti (T).



Neplatný:

Nezobrazí se kontrolní linie. Výsledky z jakéhokoliv testu, na kterém se ve stanoveném čase pro odečítání výsledku nezobrazila kontrolní linie, musí být znehodnoceny. Revidujte prosím postup a zopakujte test s novou testovací kazetou. Pokud problém přetrvává, přestaňte používat testovací sadu a kontaktujte svého distributora.



Nedostatečné množství vzorku, nesprávný postup při testování nebo prošlý test jsou nejčastějšími příčinami nezobrazení kontrolní linie.

Poznámka: po 15 minutách se pozitivní výsledek již nezmění. Výsledek testu by nicméně neměl být vyhodnocován po více než 15 minutách, aby se předešlo jakýmkoli nepřesným výsledkům.

9. Provedení testu

Testy, pufrы a vzorky přiveďte před testováním na pokojovou teplotu (15-30°C). Testovací kazeta by měla zůstat v ochranné fólii až do použití.

1. Vyjměte testovací kazetu NADAL® *Trichomonas Vaginalis* z ochranné fólie a položte ji na rovný a suchý povrch.
2. Držte jednorázovou pipetu nad otvorem pro vzorek (S) na testovací kazetě a přidejte 4 kapky



11. Kontrola kvality

Součástí testu je interní procedurální kontrola:

Barevná linie, která se objeví v oblasti kontrolní linie (C) je považována za interní procedurální kontrolu. Potvrzuje, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku, že membrána funguje správně a že byl dodržen správný postup při testování.

12. Omezení

- Test NADAL® *Trichomonas Vaginalis* je omezen na detekci *Trichomonas vaginalis* ze vzorku z výtěru. Přestože je test při detekci *Trichomonas vaginalis* velice přesný, existuje

malé riziko falešného výsledku. Pokud jsou získány sporné výsledky, je třeba provést další klinické testy.

- Stejně jako u všech diagnostických testů by konečná diagnóza neměla být založena na výsledku jednoho testu, ale měla by být stanovena lékařem po vyhodnocení všech klinických i laboratorních nálezů.

13. Výkonnostní charakteristiky

Byly provedeny srovnávací studie s odebranými vzorky z vaginálního výtěru za použití testu NADAL® Trichomonas Vaginalis ve srovnání s tradičními mikrobiologickými metodami a s komerčně dostupným BD Affirm™ Microbial Identification System (USA).

Testování senzitivity testu NADAL® Trichomonas Vaginalis v porovnání s tradičními mikrobiologickými metodami (n = 300):

Test NADAL® Trichomonas Vaginalis	Tradiční mikrobiologické metody			Celkem
		+	-	
	+	137	4	
-	13	146	159	
Celkem	150	150	300	

Relativní senzitivita: 91,3% (137/150)

Relativní specifita: 97,3% (146/150)

Testování senzitivity testu NADAL® Trichomonas Vaginalis v porovnání s mikrobiologickým identifikačním systémem BD Affirm™ (n = 300):

Test NADAL® Trichomonas Vaginalis	BD Affirm™ Microbial Identification System			Celkem
		+	-	
	+	137	7	
-	5	151	156	
Celkem	142	158	300	

Relativní senzitivita: 96,5% (137/142)

Relativní specifita: 95,6% (151/158)

Studie zkřížené reaktivity a interferencí

Specifita byla hodnocena studováním vzorků od *Trichomonas* negativních jedinců neobsahujících žádná úzce příbuzné mikroorganismy, které byly uměle obohaceny podobnými mikroorganismy (viz tabulka níže). Tyto vzorky byly opakovaně testovány za použití testu NADAL® Trichomonas Vaginalis v 10 replikacích. Vzorek byl klasifikován jako negativní, když se neobjevila žádná barevná testovací linie, ale barevná kontrolní linie byla viditelná během 15 minut. Vzorek byl klasifikován jako pozitivní, když se během 15 minut objevily testovací i kontrolní linie.

Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Počet testů	Mikroorganismy uměle aplikované do vzorků	Výsledky testu NADAL® Trichomonas Vaginalis	
		Uměle obohacené vzorky negativní na <i>Trichomonas</i>	Uměle obohacené vzorky pozitivní na <i>Trichomonas</i>
10	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Všechny (-)	Všechny (+)
10	<i>Proteus vulgaris</i>	Všechny (-)	Všechny (+)
10	<i>Salmonella typhi</i>	Všechny (-)	Všechny (+)
10	<i>Acinetobacter spp</i>	Všechny (-)	Všechny (+)

Počet testů	Mikroorganismy uměle aplikované do vzorků	Výsledky testu NADAL® Trichomonas Vaginalis	
		Uměle obohacené vzorky negativní na <i>Trichomonas</i>	Uměle obohacené vzorky pozitivní na <i>Trichomonas</i>
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	Všechny (-)	Všechny (+)
10	<i>Escherichia coli</i>	Všechny (-)	Všechny (+)
10	<i>Maraxella catarrhalis</i>	Všechny (-)	Všechny (+)
10	<i>Gardnerella vaginalis</i>	Všechny (-)	Všechny (+)
10	<i>Streptococcus faecalis</i>	Všechny (-)	Všechny (+)
10	<i>Neisseria lactamica</i>	Všechny (-)	Všechny (+)
10	<i>Streptococcus faecium</i>	Všechny (-)	Všechny (+)
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Všechny (-)	Všechny (+)
10	<i>Candida albicans</i>	Všechny (-)	Všechny (+)

Potencionálně interferující chemické látky (uvedené v tabulce níže) byly přidány do vzorků klinicky vyhodnocených jako normálně negativní. Vzorky byly testovány za použití testu NADAL® Trichomonas Vaginalis v replikátech po 5ti. Vzorek byl vyhodnocen jako negativní, když se neobjevila žádná barevná testovací linie, ale barevná kontrolní linie byla viditelná během 15 minut. Vzorek byl klasifikován jako pozitivní, když se během 15 minut zobrazila testovací i kontrolní linie.

Počet provedených testů	Potencionálně interferující chemické látky přidávané do negativních vzorků	
5	Acetaminofen, 20 mg/dl	Kyselina acetylsalicylová, 20 mg/dl
5	Kyselina askorbová, 20 mg/dl	Atropin, 20 mg/dl
5	Bilirubin 60 mg/dl	Kofein, 20 mg/dl
5	Kreatinin, 20 mg/dl	Kyselina gentisová, 20 mg/dl
5	Glukóza, 2 000 mg/dl	Hemoglobin, 500 mg/dl
5	Ketony, 40 mg/dl	Mestranol, 3 mg/dl
5	Nitrát, 20 mg/dl	Penicilin, 40,000 U/dl
5	Heparin sodný, 3 mg/dl	Lithium heparin, 3 mg/dl

Následující interferující chemické substance (uvedené v tabulce níže) byly vybrány pro studii interference vysokých dávek. Vzorky definované jako negativní na *Trichomonas* byly uměle obohaceny o vybrané interferující látky ve vysokých dávkách a testovány za použití testu NADAL® Trichomonas Vaginalis.

Studie interference vysokých dávek		
Interferující substance	Koncentrace	Výsledek (3 šarže)
Triglyceridy	500 mg/ml	-/-/-
Bilirubin	0,1 mg/ml	-/-/-
Prostatická kyselá fosfatáza	1000 mIU	-/-/-
Albumin	20 mg/ml	-/-/-

Žádná z testovaných substancí (uvedených v tabulce výše) nevykázala interferenci se vzorky klinicky definovanými jako negativní. Negativní vzorky uměle obohacené o potencionálně interferující substance vykazovaly konsistentně negativní výsledky.

Studie reprodukovatelnosti

Studie reprodukovatelnosti byla provedena na 3 různých místech. Negativní, slabě pozitivní a silně pozitivní vzorky byly testovány za použití celkem 120 sad testů NADAL® Trichomonas Vaginalis. Vzorky byly testovány dvakrát denně, ve 2 různých sériích, každý den po dobu 20 dnů. Toto umožnilo oddělené testování "mezi dny", "mezi testy" (intra-lot) a "během jednoho dne", které vykazalo konsistentní výsledky.

Studie reprodukovatelnosti na základě studijních míst

Odečtení Trichomonas testu (počet testů)			
Místa testování	Negativní	Slabě pozitivní	Silně pozitivní
1	N (40)	P (40)	P (40)
2	N (40)	P (40)	P (40)
3	N (40)	P (40)	P (40)











Výsledky testování na všech 3 místech byly ve 100% shodě.

14. Reference

- Bowden FJ, Garnett GP (2000) Trichomonas vaginalis epidemiology: parameterising and analysis, a model of treatment intervention. Sex Trans Infect 76:248-256.
- Wang CC, McClellandRS, ReillyM, OverbaughJ, EmerySR, MandaliyaK, Chohan B, Ndinya Acholaj, Bwayoj,Kreiss JK (2001) The effect of treatment of vaginal infection on shedding of immunodeficiency virus type 1. J Infect Dis 183:1017-1022.
- World Health Organisation (2001) Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. World Health Organisation, Geneva, Switzerland.
- Ledru S, Meda N, Fofana, M, Soula G, Bazie AJ, Chiron JP (1992) Etiologic study of genitourinary infections in women of child bearing age in Bobo-Dioulasso, Burkina FasoSex Transm Dis; 23(2):151-156.
- Yereli K, Balcioglu IC, Degerli K, Ozbilgin A, Daldal N (1997) Incidence of Trichomonas vaginalis among women having vaginal discharge, in Manisa, Turkey J Egypt Soc Parasitol 27 (3): 905 – 911.

Rev. 0, 2015-08-11 TF

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

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

Our Teams

Germany:

Regensburg

Tel: +49 941 290 10-0

Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0

Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29

Free Tel: 0800 291 565

Fax: +49 290 10-50

Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18

Free Tel –UK: 0808 234 1237

Free Tel – IRE: 1800 555 080

Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240

France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720

Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82

Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux. Tel: 800 211 16

Lux. Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759

Free Tel: 900 938 315

Fax: +49 941 290 10-50

Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34

Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44

Free Tel: 00 800 491 15 95

Fax: +49 941 290 10-50

Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735

Tel. Verde: 800 849 230

Fax: +49 941 290 10-50

Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600

Free Tel: 0800 0222 890

Fax: +31 70 30 30 775

Free Fax: 0800 024 9519

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

Tel: +31 703075 607

Free Tel: +45 80 88 87 53

Tax: +31 703030 775

Laboratory Diagnostics Team:

Tel: +49 941 290 10-40

Fax: +49 941 290 10-50



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

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

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