

NADAL[®] Tuberculosis IgG/ IgM Test (test cassette)

REF 322003N-30



| | | | | |
|-----------|----------------------------|----|-----------|----|
| DE | Gebrauchsanweisung | 2 | Symbols | 23 |
| EN | Instructions for use | 5 | Our Teams | 24 |
| FR | Instructions d'utilisation | 8 | | |
| ES | Instrucciones de uso | 11 | | |
| PL | Sposób użycia | 14 | | |
| PT | Instruções de Utilização | 17 | | |



1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® Tuberkulose IgG/IgM Test ist ein chromatographischer Immunoassay im Lateral-Flow-Format für den gleichzeitigen Nachweis und Differenzierung von anti-*Mycobacterium Tuberculosis (M.Tb)*-IgM und -IgG in menschlichem Serum, Plasma oder Vollblut. Der Test ist als Screening-Test zu benutzen und ist als Hilfsmittel zur Diagnose von *M.Tb* Infektionen vorgesehen. Jede mit dem NADAL® Tuberkulose IgG/IgM Test reaktive Probe muss durch alternative Testmethoden und klinische Befunde bestätigt werden.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Tuberkulose (Tb) ist eine chronische, übertragbare Krankheit, die hauptsächlich durch *M.Tb hominis* (Koch-Bazillus) und manchmal auch durch *M.Tb bovis* hervorgerufen wird. Meistens werden die Lungen angegriffen, aber auch andere Organe können infiziert werden.

Das Risiko sich mit Tb zu infizieren ist im 20. Jahrhundert exponentiell zurückgegangen. Das jüngste Auftreten von arzneimittelresistenten Bakterienstämmen,¹ vor allem bei Patienten mit AIDS,² hat das Interesse an Tb wieder angefangen. Ca. 8 Millionen Infektionsfälle werden pro Jahr verzeichnet, mit einer jährlichen Sterblichkeitsrate von 3 Millionen. Die Sterblichkeitsrate überschreitet 50 % in einigen afrikanischen Ländern mit einem hohen HIV-Prozentsatz.^{3,4}

Ein erster klinischer Verdacht und Röntgenbefunde mit einer nachfolgenden Laborbestätigung durch eine Sputum- und eine Kulturuntersuchung sind herkömmliche Methoden zur Diagnostizierung einer aktiven Tb.^{5,6} Diese Methoden sind jedoch entweder nicht empfindlich genug oder zeitaufwendig und insbesondere nicht geeignet für Patienten, deren Abstrich negativ ist, für Patienten, die keine ausreichende Auswurfmenge produzieren können oder bei denen ein Verdacht auf eine extrapulmonale Tb besteht.

Der NADAL® Tuberkulose IgG/IgM Test wurde entwickelt, um diese Hindernisse zu überwinden. Der Test weist nach 15 Minuten anti-*M.Tb*-IgM und -IgG im Serum, Plasma oder Vollblut nach. Ein positives IgM-Ergebnis weist auf eine frische *M.Tb*-Infektion hin, während ein positives IgG-Ergebnis auf eine vorherige oder chronische Infektion hinweist. Der NADAL® Tuberkulose IgG/IgM Test weist ebenfalls anti-*M.Tb*-IgM bei Patienten nach, die mit BCG unter Verwendung von spezifischen *M.Tb*-Antigenen geimpft wurden.⁷⁻⁹ Und zudem kann der Test durch ungeschulte oder wenig geschulte Mitarbeiter, ohne aufwendige Laborausrüstung durchgeführt werden.

3. Testprinzip

Der NADAL® Tuberkulose IgG/IgM Test ist ein chromatographischer Immunoassay im Lateral-Flow-Format. Die Testkassette besteht aus: 1) einem farbigen Konjugat-Pad, das mit kolloidalem Gold konjugierte *M.Tb*-Antigene (*M.Tb*-Konjugate) und Kaninchen IgG-Goldkonjugate enthält; 2) einem Nitrozellulosemembranstreifen, der zwei Testlinien M und G und eine Kontrolllinie C enthält. Die Testlinie M ist mit monoklonalem anti-human-IgM zum Nachweis von anti-*M.Tb*-IgM vorbeschichtet, die Testlinie G ist mit Antikörpern zum Nachweis von anti-*M.Tb*-IgG vorbeschichtet und die

Kontrolllinie C ist mit Ziegen-Anti-Kaninchen-IgG vorbeschichtet.

Wenn eine ausreichende Probenmenge in die Probenvertiefung (S) der Testkassette gegeben wird, wandert die Probe durch Kapillarkraft die Testkassette entlang. Falls in der Probe anti-*M.Tb*-IgM vorhanden sind, binden sich diese an die *M.Tb*-Konjugate. Der Immunkomplex wird dann auf der Membran von den vorbeschichteten anti-human-IgM gebunden und formt eine farbige Testlinie M, was bedeutet, dass das Testergebnis positiv für *M.Tb*-IgM ist.

Falls in der Probe anti-*M.Tb*-IgG vorhanden sind, binden sich diese an die *M.Tb*-Konjugate. Der Immunkomplex wird dann von den vorbeschichteten Antikörpern auf der Membran gebunden und formt eine farbige Testlinie G, die ein positives *M.Tb*-IgG-Testergebnis anzeigt.

Wenn keine farbigen Testlinien (G und M) vorhanden sind, ist das Testergebnis negativ. Der Test beinhaltet eine interne Kontrolle (C-Linie) des Immunkomplexes aus Ziege-anti-Kaninchen-IgG/ Kaninchen-IgG-Goldkonjugat, die immer ungeachtet der Farbentwicklung der Testlinien erscheinen sollte. Ist dies nicht der Fall, ist das Testergebnis ungültig und die Probe muss mit einem anderen Test wiederholt werden.

4. Bestandteile der Testpackung

- 30 Testkassetten, individuell versiegelt in einer Folienverpackung, die drei Bestandteile enthält:
 - 1 Testkassette
 - 1 Plastikpipette
 - 1 Trockenmittel
 - Probenverdünnungsmittel (1 Fläschchen, 5 ml)
 - eine Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Uhr oder Timer
- Lanzette für Vollbluttestung

6. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch. Die Nichteinhaltung der Gebrauchsanweisung führt zu ungenauen Testergebnissen.
- Den verschlossenen Folienbeutel erst öffnen, wenn Sie den Test durchführen wollen.
- Abgelaufene Tests nicht benutzen.
- Alle Reagenzien vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C) bringen.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test Kits austauschen oder mischen.
- Keine hämolyisierten Blutproben für den Test benutzen.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Alle Proben sind als potenziell gesundheitsgefährdend anzusehen und müssen wie infektiöses Untersuchungsmaterial behandelt werden. Bestehende Vorsichtsmaßnahmen beachten und die Standardverfahren zur richtigen Abfallbeseitigung der Proben befolgen.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Testkits umgegangen wird.

- Alle Proben und Materialien, die zur Testdurchführung benutzt werden, sollten als potenziell biologisches Risikomaterial entsorgt werden.
- Das Ergebnis sollte nach 15 Minuten nach Eingabe der Probe in die Probenvertiefung (S) der Testkassette abgelesen werden. Lesen Sie das Ergebnis nicht nach mehr als 15 Minuten ab. Positive Testresultate können schon innerhalb einer Minute sichtbar werden.
- Führen Sie den Test nicht in einem Raum mit starkem Luftzug durch, der z.B. durch Ventilatoren oder eine starke Klimaanlage entsteht.

7. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Alle mitgelieferten Reagenzien sind gebrauchsfertig. Lagern Sie ungenutzte und ungeöffnete Tests bei 2-30°C. Bei Lagerung zwischen 2°C und 8°C stellen Sie sicher, dass der Test auf Raumtemperatur gebracht wird, bevor Sie ihn öffnen. Der Test ist bis zum auf dem versiegelten Folienbeuten aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Das Testkit nicht einfrieren und Temperaturen von über 30°C nicht aussetzen.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Betrachten Sie alle Materialien menschlichen Ursprungs als potentiell infektiös und handhaben Sie diese unter Einhaltung der allgemein gültigen Standardarbeitsanweisungen zur Biosicherheit.

Plasma

1. Entnehmen Sie eine Blutprobe durch Venenpunktion in einem Probensammelröhrchen, das EDTA, Zitrat oder Heparin enthält.
2. Plasma durch Zentrifugation trennen.
3. Das Plasma vorsichtig in ein neues, beschriftetes Probensammelröhrchen geben.

Serum

1. Entnehmen Sie eine Blutprobe durch Venenpunktion in einem Probensammelröhrchen, das keine Anticoagulanzen wie EDTA, Zitrat oder Heparin enthält.
2. Das Blut gerinnen lassen.
3. Serum durch Zentrifugation trennen.
4. Das Serum vorsichtig in ein neues, beschriftetes Probensammelröhrchen geben.

Proben sollten so bald wie möglich nach Probennahme getestet werden. Wenn Proben nicht sofort getestet werden, sollten sie bei 2-8°C bis zu 5 Tagen gelagert werden. Für langfristige Lagerung sollten sie bei Temperaturen unter -20°C eingefroren werden.

Vermeiden Sie wiederholte Gefrier-Auftauzyklen. Vor der Testdurchführung eingefrorene Proben langsam auf Raumtemperatur bringen und vorsichtig mischen. Proben, die sichtbare Partikeln enthalten, sollten vor der Testdurchführung zentrifugiert werden. Verwenden Sie keine Proben, die ausgeprägte Lipämien, Hämolysen, oder Trübungen aufweisen, um Unregelmäßigkeiten bei der Testauswertung zu vermeiden.

Vollblut

Einige Tropfen Vollblut können entweder durch Finger- oder Venenpunktion entnommen werden. Verwenden Sie kein hämolyisiertes Blut.

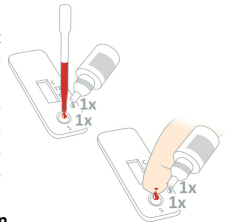
Vollblutproben sollten gekühlt (2-8°C) gelagert werden, wenn sie nicht sofort getestet werden. Die Proben sollten innerhalb von 24 Stunden nach der Probenentnahme getestet werden.

9. Testdurchführung

1. Bringen Sie die Probe und Testbestandteile auf Raumtemperatur, wenn diese gekühlt oder eingefroren waren. Die Probe vor der Testdurchführung gründlich mischen.
2. Wenn Sie bereit sind den Test durchzuführen, öffnen Sie den Folienbeutel und entnehmen Sie die Testkassette. Die Testkassette auf eine saubere, flache Oberfläche legen. Die Testkassette mit der Proben-ID-Nummer beschriften.

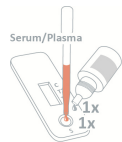
3. a) Für Vollbluttestungen

- Geben Sie 1 Tropfen Vollblut (ca. 40-50 µl) in die Probenvertiefung (S) der Testkassette.
- Fügen Sie unverzüglich 1 Tropfen (ca. 35-50 µl) Probenverdünnungsmittel hinzu. Stellen Sie sicher, dass keine Luftblasen entstehen.



b) Für Serum-, Plasmatestungen

- Füllen Sie eine Plastikpipette mit der Probe.
- Halten Sie die Pipette senkrecht und geben Sie 1 Tropfen (ca. 30-45 µl) Probe in die Probenvertiefung (S) der Testkassette.
- Fügen Sie unverzüglich 1 Tropfen (ca. 35-50 µl) Probenverdünnungsmittel hinzu. Stellen Sie sicher, dass keine Luftblasen entstehen.
- 4. Den Timer starten.
- 5. Das Ergebnis nach 15 Minuten ablesen. Positive Testresultate können schon innerhalb einer Minute sichtbar werden.



Lesen Sie das Ergebnis nicht nach mehr als 15 Minuten ab. Um Verwirrung zu vermeiden, entsorgen Sie die Testkassette nach der Testauswertung.

10. Testauswertung

Positives Ergebnis für anti-M.Tb-IgM:

Zusätzlich zur Linie im Kontrolllinienbereich (C) erscheint eine farbige Linie im Testlinienbereich (M), die auf das Vorhandensein von anti-M.Tb-IgM hinweist.



Positives Ergebnis für anti-M.Tb-IgG:

Zusätzlich zur Linie im Kontrolllinienbereich (C) erscheint eine farbige Linie im Testlinienbereich (G), die auf das Vorhandensein von anti-M.Tb-IgG hinweist.



Positives Ergebnis für anti-M.Tb-IgG und -IgM:

Zusätzlich zur Linie im Kontrolllinienbereich (C) erscheinen beide Testlinien G und M, die auf das Vorhandensein von anti-M.Tb-IgG und anti-M.Tb-IgM hinweisen.



Proben mit positiven Ergebnissen sollten durch alternative Testmethoden und klinische Befunde bestätigt werden, bevor eine positive Diagnose gestellt wird.

Negatives Ergebnis:

Es erscheint nur die Kontrolllinie C. Die Abwesenheit der Testlinien G und M weist darauf hin, dass keine anti-*M. Tb*-Antikörper nachgewiesen wurden.

**Ungültiges Ergebnis:**

Die Abwesenheit der Kontrolllinie C ungeachtet der Farbentwicklung der Testlinien G und M weist auf ein Fehlschlagen des Testverfahrens hin. Die Probe sollte mit einem neuen Test wiederholt werden.



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

11. Qualitätskontrolle

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

12. Leistungsmerkmale des Tests**1. Klinische Leistung des IgM Tests**

Insgesamt 200 Proben von nicht-Tb Patienten und 35 Proben von Patienten, die mit anti-Tb Medikamenten behandelt wurden, wurden mit Hilfe des NADAL® Tuberkulose IgG/IgM Tests und einem kommerziell erhältlichen TB IgM ELISA untersucht. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

| IgM ELISA | NADAL® Tuberkulose IgG/IgM Test | | Total |
|-----------|---------------------------------|---------------|-------|
| | Positiv (IgM) | Negativ (IgM) | |
| Positiv | 30 | 5 | 35 |
| Negativ | 7 | 193 | 200 |
| Total | 37 | 198 | 235 |

Relative Sensitivität: 85,7%

Relative Genauigkeit 96,5%

Gesamtübereinstimmung: 94,9%

2. Klinische Leistung des IgG Tests

Insgesamt 200 Proben von nicht-Tb Patienten und 35 Proben von Patienten, die mit anti-Tb Medikamenten behandelt wurden, wurden mit Hilfe des NADAL® Tuberkulose IgG/IgM Tests und einem kommerziell erhältlichen TB IgG ELISA untersucht. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

| IgG ELISA | NADAL® Tuberkulose IgG/IgM Test | | Total |
|-----------|---------------------------------|---------------|-------|
| | Positiv (IgG) | Negativ (IgG) | |
| Positiv | 31 | 4 | 35 |
| Negativ | 7 | 193 | 200 |
| Total | 38 | 197 | 235 |

Relative Sensitivität: 88,6%

Relative Genauigkeit: 96,5%

Gesamtübereinstimmung: 95,3%

13. Grenzen des Tests

- Die Abschnitte „Testdurchführung“ und „Testauswertung“ sollten beim Testen auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen *M. Tb* im Serum, Plasma oder Vollblut strengstens befolgt werden. Die Nichtbefolgung der Anweisungen kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Der NADAL® Tuberkulose IgG/IgM Test ist nur zum qualitativen Nachweis von anti-*M. Tb*-IgG und anti-*M. Tb*-IgM in menschlichem Serum, Plasma oder Vollblut bestimmt. Die Farbintensität der Testlinien steht in keinem linearen Zusammenhang mit dem Antikörper-Titer der Probe.
- Der Test weist ebenfalls Antikörper gegen *M. bovis* und *M. africanum* nach.
- Personen, die mit BCG geimpft wurden, können ein IgG positives Testergebnis aufweisen.
- Ein negatives Testergebnis zeigt an, dass keine Antikörper gegen *M. Tb* nachgewiesen wurden. Ein negatives Testergebnis schließt jedoch nicht die Möglichkeit der Exposition gegenüber *M. Tb* oder einer Infektion mit *M. Tb* aus.
- Ein negatives Ergebnis ist ebenfalls möglich, wenn die Anzahl der in der Probe vorhandenen Antikörper gegen *M. Tb* unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt oder wenn die in der Probe nachgewiesenen Antikörper im Krankheitsstadium nicht vorhanden waren, in dem die Probe entnommen wurde.
- Immungeschwächte Zustände wie eine HIV-Infektion können die Testsensitivität beeinträchtigen.
- Proben, die einen ungewöhnlich hohen Titer an heterophilen Antikörpern oder Rheumafaktoren enthalten, können die erwarteten Ergebnisse beeinträchtigen.
- Die durch diesen Test erzielten Ergebnisse sollten nur im Zusammenhang mit anderen diagnostischen Verfahren und klinischen Befunden interpretiert werden.

14. Referenzen

- Schaaf, H. S., P. Botha, N. Beyers, R. P. Gie, H. A. et al. 1996. The 5-year outcome of multidrug resistant tuberculosis patients in the Cape Province of South Africa. Trop. Med. Int. Health 1:718-722
- Havir, D. V., and P. F. Barnes. 1999. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. N. Engl. J. Med. 340:367-373
- Dye L., Scheele S., V. Pathania, et al.: 1999 Global Burden of Tuberculosis Estimated Incidence, Prevalence, and Mortality by Country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA. 282:677-686.
- Kochi, A. 1991 The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. Tubercle 72:1-6
- Merlin TL, Gibson DW, and DH Connor 1994. Tuberculosis, p400-404 in Rubein E and Farber JL (ed)-Pathology, 2nd edition. J.B. Lippincott Company
- Daniel, T. M. 1996. Immunodiagnosis of tuberculosis, p. 223-231. In W. N. Rom, and S. Garzy (ed.), Tuberculosis. Letter, Brown & Co., Boston, Mass.
- Wilkins, E. G. L. 1994. The serodiagnosis of tuberculosis, p. 367-379. In P. D. O. Davies (ed.), Clinical tuberculosis. Chapman & Hall, Ltd., London, England.
- Chan ED., Helfets L., and MD Iseman. 2000 Immunological Diagnosis of tuberculosis: a review. Tuberc. Lung Dis. 80: 131-140.
- Foulds, J., and R. O'Brien. 1998. New tools for the diagnosis of tuberculosis: the perspective of developing countries. Int. J. Tubercle. Lung Dis. 2: 778-783

Rev.2, 2015-11-25 OM/UJ

1. Intended Use

The NADAL® Tuberculosis IgG/IgM test is a lateral flow chromatographic immunoassay for the simultaneous detection and differentiation of anti-*Mycobacterium Tuberculosis (M.Tb)* IgM and IgG in human serum, plasma or whole blood. The test is intended to be used as a screening test and as an aid in the diagnosis of infection with *M.Tb*. Any reactive specimen with the NADAL® Tuberculosis IgG/IgM test should be confirmed with alternative testing method(s) and clinical findings.

2. Introduction and Clinical Significance

Tuberculosis (Tb) is a chronic, communicable disease principally caused by *M.Tb hominis* (Koch's bacillus), occasionally by *M.Tb bovis*. The lungs are the primary target but any organ may be infected.

The risk of Tb infection exponentially declined in the 20th century. However, the recent emergence of drug-resistant strains¹, particularly among patients with AIDS², has rekindled interest in Tb. The incidence of infection was reported to be around 8 million cases per year with a death rate of 3 million annually. Mortality exceeded 50% in some African countries with high HIV rates.^{3,4}

The initial clinical suspicion, radiographic findings with subsequent laboratory confirmation by sputum and by culture examination are traditional methods in the diagnosis of active Tb.^{5,6} However, these methods either lack sensitivity or are time consuming. Moreover, they are not suitable for smear-negative patients, patients who are unable to produce adequate sputum or patients suspected to have extrapulmonary Tb.

The NADAL® Tuberculosis IgG/IgM test is developed to alleviate these obstacles. The test detects anti-*M.Tb* IgM and IgG in serum, plasma or whole blood in 15 minutes. An IgM positive result indicates a fresh *M.Tb* infection, while an IgG positive result suggests a previous or chronic infection.⁷⁻⁹ The NADAL® Tuberculosis IgG/IgM test also detects anti-*M.Tb* IgM in patients vaccinated with BCG using *M.Tb* specific antigens. In addition, the test can be performed by untrained or minimally-skilled personnel without cumbersome laboratory equipment.

3. Test Principle

The NADAL® Tuberculosis IgG/IgM test is a lateral flow chromatographic immunoassay. The test cassette consists of: 1) a coloured conjugate pad containing *M.Tb* antigens conjugated with colloidal gold (*M.Tb* conjugates) and rabbit IgG-gold conjugates, 2) a nitrocellulose membrane strip containing two test lines M and G and a control line C. The M line is pre-coated with monoclonal anti-human IgM for the detection of anti-*M.Tb* IgM, the G line is pre-coated with antibodies for the detection of anti-*M.Tb* IgG and the C line is pre-coated with goat anti-rabbit IgG.

When an adequate volume of test specimen is dispensed into the sample well (S) of the test cassette, the specimen migrates by capillary action along the test cassette. If anti-*M.Tb* IgM are present in the specimen, they will bind to the *M.Tb* conjugates. The immunocomplex is then captured by the pre-coated anti-human IgM on the membrane, forming a coloured M line, indicating an anti-*M.Tb* IgM positive test result.

If anti-*M.Tb* IgG are present in the specimen, they will bind to the *M.Tb* conjugates. The immunocomplex is then captured by the pre-coated antibodies on the membrane, forming a coloured G line, indicating an anti-*M.Tb* IgG positive test result.

The absence of either test line (G and M) suggests a negative test result. The test contains an internal control (C line). A coloured C line of the immunocomplex of goat anti-rabbit IgG/rabbit IgG-gold conjugate must always appear regardless of the colour development of either of the test lines. Otherwise, the test result is invalid and the specimen should be retested with another test cassette.

4. Reagents and Materials Supplied

- 30 test cassettes, each sealed in a foil pouch with three items inside:
 - 1 test cassette
 - 1 plastic dropper
 - 1 desiccant
- Sample diluent (1 bottle, 5 mL)
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

- Clock or timer
- Lancing device for whole blood test

6. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the test procedure prior to testing. Failure to follow the insert will lead to inaccurate test results.
- Do not open the sealed foil pouch unless ready to conduct the assay.
- Do not use expired test devices.
- Bring all reagents to room temperature (15-30°C) before testing.
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not use hemolised blood specimens for testing.
- 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 against microbiological hazards throughout the procedure and follow standard procedures for the proper disposal of specimens.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are being handled.
- Dispose of all specimens and materials used to perform the test as biohazardous waste.
- The test results should be read after 15 minutes after specimen is added to the sample well (S) of the test cassette. Reading test results after more than 15 minutes may give erroneous results. Positive results can be visible after as little as 1 minute.
- Do not perform the test in a room with strong air flow, i.e. an electric fan or strong air-conditioning.

7. Storage & Stability

All reagents are ready to use as supplied. Store unused test devices unopened at 2-30°C. If stored at 2-8°C, ensure that the test device is brought to room temperature before opening. The test device is stable through to the expiration date printed on the sealed pouch. Do not freeze the test kit or expose it to temperatures of over 30°C.

8. Specimen Collection and Preparation

Consider any materials of human origin as infectious and handle them following biosafety standard operating procedures.

Plasma

1. Collect blood specimen by venipuncture in a collection tube containing EDTA, citrate or heparin.
2. Separate plasma by centrifugation.
3. Carefully withdraw the plasma into a new pre-labeled tube.

Serum

1. Collect blood specimen by venipuncture in a collection tube containing no anticoagulants.
 2. Allow the blood to clot.
 3. Separate serum by centrifugation.
 4. Carefully withdraw the serum into a new pre-labeled tube.
- Test specimens as soon as possible after collecting. If specimens are not tested immediately after collection, store them at 2-8°C for up to 5 days. Specimens should be frozen at -20°C for longer storage.

Avoid multiple freeze-thaw cycles. Prior to testing, bring frozen specimens slowly to room temperature and mix them gently. Specimens containing visible particulate matter should be clarified by centrifugation before testing. Do not use samples demonstrating gross lipemia, gross hemolysis or turbidity in order to avoid interference with test result.

Whole blood

Whole blood of which blood can be obtained by either fingerstick or by venipuncture. Do not use any haemolysed blood for testing.

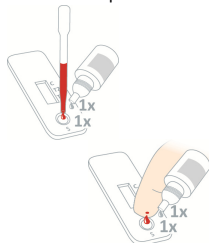
Whole blood specimens should be stored refrigerated (2-8°C) if not tested immediately. Specimens must be tested within 24 hours of collection.

9. Test Procedure

1. Bring the test components and specimen to room temperature if refrigerated or frozen. Once thawed, mix the specimen well prior to testing.
2. When ready to test, open the foil pouch and remove the test cassette. Place the test cassette on a clean, flat surface. Be sure to label the device with the specimen's ID number.

3. a) For whole blood test

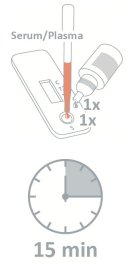
- Dispense 1 drop of whole blood (about 40-50 µL) into the sample well (S).
- Then add 1 drop (about 35-50 µL) of sample diluent immediately making sure that there are no air bubbles.



b) For serum or plasma test

- Fill a dropper with serum/plasma specimen.

- Holding the dropper vertically, dispense 1 drop (about 30-45 µL) of specimen into the sample well (S).
 - Then add 1 drop (about 35-50 µL) of sample diluent immediately making sure that there are no air bubbles.
4. Set up the timer.
 5. Results can be read after 15 minutes. Positive results can be visible in as little as 1 minute.



Don't read results after more than 15 minutes. To avoid confusion, discard the test cassette after interpreting the result at the allotted time.

10. Result Interpretation

Positive result for anti-*M. Tb* IgM:

In addition to the line in the control line region (C), a coloured line develops in the test line region (M), indicating the presence of anti-*M. Tb* IgM antibodies.



Positive result for anti-*M. Tb* IgG:

In addition to the line in the control line region (C), a coloured line develops in the test line region (G), indicating the presence of anti-*M. Tb* IgG antibodies.



Positive result for anti-*M. Tb* IgG and anti-*M. Tb* IgM:

In addition to the line in the control line region (C), both G and M lines develop, indicating the presence of anti-*M. Tb* IgG and anti-*M. Tb* IgM.



Samples with positive results should be confirmed with alternative testing method(s) and clinical findings before a positive determination is made.

Negative result:

Only the control line C appears. The absence of both G and M lines indicates that no anti-*M. Tb* antibodies have been detected.



Invalid result:

The absence of the control line C, regardless of any colour development of the G and M lines, indicates a failure in the test procedure. The sample should be retested.



Note: Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your distributor.

11. Quality Control

A procedural control is included in the test cassette. A coloured line developing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms

sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

12. Performance Characteristics

1. Clinical Performance of IgM Tests

A total of 200 specimens from non-*Tb* patients and 35 specimens from patients under anti-*Tb* treatment were tested with the NADAL® Tuberculosis IgG/IgM test and a commercial TB IgM ELISA. The results are presented in the following table.

| IgM ELISA | NADAL® Tuberculosis IgG/IgM Test | | Total |
|-----------|----------------------------------|----------------|-------|
| | Positive (IgM) | Negative (IgM) | |
| Positive | 30 | 5 | 35 |
| Negative | 7 | 193 | 200 |
| Total | 37 | 198 | 235 |

Relative Sensitivity: 85.7%

Relative Specificity: 96.5%

Overall Agreement: 94.9%

2. Clinical Performance of IgG Tests

A total of 200 specimens from non-*Tb* patients and 35 specimens from patients under anti-*Tb* treatment were tested with the NADAL® Tuberculosis IgG/IgM test and a commercial TB IgG ELISA. The results are presented in the following table.

| IgG ELISA | NADAL® Tuberculosis IgG/IgM Test | | Total |
|-----------|----------------------------------|----------------|-------|
| | Positive (IgG) | Negative (IgG) | |
| Positive | 31 | 4 | 35 |
| Negative | 7 | 193 | 200 |
| Total | 38 | 197 | 235 |

Relative Sensitivity: 88.6%

Relative Specificity: 96.5%

Overall Agreement: 95.3%

13. Limitations

- The points "Procedure of the Test" and "Interpretation of the Results" should be followed closely when testing for the presence of antibodies to *M. Tb* in serum, plasma or whole blood. Failure to follow the procedure may give inaccurate results.
- The NADAL® Tuberculosis IgG/IgM test is limited to the qualitative detection of anti-*M. Tb* IgG and anti-*M. Tb* IgM in human serum, plasma or whole blood. The intensity of the test lines does not have a linear correlation with the antibody titer in the specimen.
- The test also detects antibodies to *M. bovis* and *M. africanum*.
- An IgG positive response may be detected in BCG vaccinated persons.
- A negative result indicates the absence of detectable antibodies to *M. Tb*. However, a negative test result does not preclude the possibility of exposure to, or infection with *M. Tb*.
- A negative result can occur if the quantity of antibodies to *M. Tb* present in the specimen is below the detection limit of the assay or the detected antibodies were not present in the sample during the stage of disease in which the sample was collected.
- Immunocompromised conditions such as HIV infection can reduce test sensitivity.

- Some specimens containing unusually high titers of heterophile antibodies or rheumatoid factors may affect expected results.
- The results obtained with this test should only be interpreted in conjunction with other diagnostic procedures and clinical findings.

14. References

1. Schaaf, H. S., P. Botha, N. Beyers, R. P. Gie, H. A. et al 1996. The 5-year outcome of multidrug resistant tuberculosis patients in the Cape Province of South Africa. Trop. Med. Int. Health 1:718-722
2. Havir, D. V., and P. F. Barnes. 1999. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. N. Engl. J. Med. 340:367-373
3. Dye L., Scheele S., V. Pathania, et al: 1999 Global Burden of Tuberculosis Estimated Incidence, Prevalence, and Mortality by Country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA. 282:677-686.
4. Kochi, A. 1991 The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. Tubercle 72:1-6
5. Merlin TL, Gibson DW, and DH Connor 1994. Tuberculosis, p. 400-404 in Ruben E and Farber JL (ed)-Pathology, 2nd edition. J.B. Lippincott Company
6. Daniel, T. M. 1996. Immunodiagnosis of tuberculosis, p. 223-231. In W. N. Rom, and S. Garay (ed.), Tuberculosis. Letter, Brown & Co., Boston, Mass.
7. Wilkens, E. G. L. 1994. The serodiagnosis of tuberculosis, p. 367-379. In P. D. O. Davies (ed.), Clinical tuberculosis. Chapman & Hall, Ltd., London, England.
8. Chan ED., Helfets L, and MD Iseman. 2000 Immunological Diagnosis of tuberculosis: a review. Tuber. Lung Dis. 80: 131-140.
9. Foulds, J., and R. O'Brien. 1998. New tools for the diagnosis of tuberculosis: the perspective of developing countries. Int. J. Tubercle. Lung Dis. 2: 778-783

Rev.2, 2015-11-25 OM/UJ

1. Domaine d'application

Le test NADAL® Tuberculosis IgG/IgM est un test immunochromatographique à flux latéral, permettant la détection et la différenciation simultanées des anticorps IgM anti-*Mycobacterium Tuberculosis* (*M.Tb*) et des anticorps IgG anti-*M.Tb* dans le sérum, le plasma ou le sang total. Ce test doit être utilisé comme test de dépistage et comme aide au diagnostic de l'infection *M.Tb*. Les résultats du test NADAL® Tuberculosis IgG/IgM doivent être confirmés par des méthodes alternatives et des résultats cliniques complémentaires.

2. Introduction et signification clinique

La tuberculose, une maladie chronique contagieuse principalement provoquée par le *M.Tb hominis* (bacille de Koch) et parfois par le *M.Tb bovis*, attaque principalement les poumons même si d'autres organes peuvent également être touchés.

Le risque de contamination à la tuberculose a considérablement diminué au cours du XXème siècle. Cependant l'apparition récente d'une souche microbienne¹ résistant aux médicaments, notamment chez les patients atteints du SIDA², a relancé l'intérêt pour la tuberculose. On enregistre 8 millions de cas d'infection chaque année, cette maladie étant mortelle pour 3 millions d'entre eux. C'est dans les pays africains que le taux est le plus élevé (50% des cas sont mortels) du au nombreux patients atteints du SIDA.^{3,4}

Dès le moindre doute clinique, l'examen radiographique et la confirmation en laboratoire par examen d'un crachat et d'une culture sont les méthodes traditionnelles pour diagnostiquer un cas de tuberculose^{5, 6}. Cependant ces méthodes ne sont soit pas suffisamment exactes, soit elles nécessitent trop de temps. Pour les patients ne pouvant pas produire une quantité de crachat suffisante ou dont le prélèvement d'expectoration n'est pas de bonne qualité, ces méthodes ne sont pas appropriées.

Le test NADAL® Tuberculosis IgG/IgM a été conçu pour pallier à ces obstacles. Le test identifie la présence ou non d'IgM et IgG anti-*M.Tb* dans le sérum, le plasma ou le sang total en 15 minutes. Un résultat positif à l'IgM indique une infection *M.Tb* récente alors qu'un résultat positif à l'IgG indique une infection antérieure ou chronique. Le test NADAL® Tuberculosis IgG/IgM décèle également l'IgM anti-*M.Tb* chez les patients qui ont reçu le vaccin BCG grâce à l'utilisation des antigènes spécifiques *M.Tb*.⁷⁻⁹ Le test peut être effectué par un employé non ou peu qualifié et sans matériel de laboratoire encombrant.

3. Principe du test

Le test NADAL® Tuberculosis IgG/IgM est un test immunochromatographique à flux latéral. La cassette est composée de: 1) Un tampon de conjugués colorés antigènes *M.Tb* – ou colloïdal (conjugué *M.Tb*) et de conjugués anticorps de lapin IgG – ou colloïdal; 2) Une bandelette avec membrane en nitrocellulose comprenant lignes de test (M et G) et une zone de contrôle (C). La zone de test M a été pré-enduite d'anticorps monoclonaux IgM anti-humain pour le dépistage de l'anticorps IgM anti-*M.Tb*; la zone de test G a été pré-enduite d'anticorps pour le dépistage de l'anticorps IgG anti-

M.Tb et la zone de contrôle (C) a été pré-enduite d'anticorps IgG de chèvre anti-lapin.

Si le volume de prélèvement déposé dans le puits de dépôt de la cassette est suffisant, il migre par capillarité le long de la membrane. Dans le cas où des anticorps IgM anti-*M.Tb* sont présents dans les prélèvements, ceux-ci se lient au conjugué *M.Tb*. Le complexe immun se lie aux anticorps IgM anti-humain préalablement immobilisés sur la membrane. Une ligne de test apparaît à hauteur de la zone de test M. Le test est positif aux IgM *M.Tb*.

Dans le cas où des anticorps IgG anti-*M.Tb* sont présents dans les prélèvements, ils se lient au conjugué *M.Tb*. Le complexe immun se lie aux anticorps préalablement immobilisés sur la membrane. Une ligne de test apparaît à hauteur de la zone de test G. Le test est positif aux IgG *M.Tb*.

Si aucune ligne colorée n'apparaît à hauteur des lignes de test (M et G), le test est négatif. Le test contient une procédure de contrôle interne (zone de contrôle C) qui doit laisser apparaître un trait de couleur rouge du complexe immun IgG de chèvre anti-lapin / IgG de lapin-conjugué d'or. Cette ligne se développe indépendamment de la ligne de test. Si aucune ligne de contrôle n'apparaît, les résultats du test ne sont pas valides et les prélèvements doivent être analysés avec un autre test.

4. Matériel fourni

- 30 cassettes emballées individuellement contenant 3 composants :
 - une cassette
 - une pipette
 - un dessiccateur
- Solution de dilution pour les prélèvements (1 flacon, 5ml)
- Notice d'utilisation

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Montre ou chronomètre
- Lancette pour l'analyse du sang total

6. Précautions et mesures de sécurité

- Test uniquement réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Lire la notice d'utilisation avant de réaliser le test. Le non-respect de la notice d'utilisation provoque des résultats faussés.
- Sortir le test de son emballage quelques minutes avant de commencer le test.
- Ne pas utiliser les tests périmés.
- Amener tous les réactifs à température ambiante avant de réaliser le test (15-30°C).
- Ne pas utiliser les composants d'un autre kit pour ce kit.
- Ne pas utiliser des prélèvements de sang hémolysé avec le test.
- Utiliser des vêtements de protection adaptés pendant l'analyse des prélèvements (blouse de laboratoire, gants à usage unique et lunettes de protection).
- Tous les prélèvements sont à considérer comme potentiellement dangereux pour la santé et doivent être manipulés comme des matériaux infectieux. Respecter les précautions existantes et les directives en vigueur relatives à l'élimination des prélèvements.

- Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de manipulation du test.
- Tous les prélèvements et matériaux utilisés pour la réalisation du test doivent être éliminés comme des déchets biologiques à risque.
- Les résultats sont à lire 15 minutes après le dépôt du prélèvement dans le puits de dépôt (S) de la cassette. Ne pas lire les résultats après plus de 15 minutes. Les résultats positifs sont lisibles dès la première minute.
- Ne pas réaliser ce test si vous vous trouvez dans une pièce très aérée (ventilateur ou forte climatisation).

7. Péréemption et conservation des réactifs

Tous les réactifs fournis sont prêt à l'emploi. Conserver les tests non utilisés dans l'emballage fermé à une température comprise entre 2 et 30°C. En cas de conservation à une température comprise entre 2 et 8°C, s'assurer d'amener les tests à température ambiante avant d'ouvrir l'emballage. Le test reste stable jusqu'à la date de péréemption indiquée sur l'emballage. Ne pas congeler le kit. Ne pas soumettre le kit à une température supérieure à 30°C.

8. Recueil et conservation des échantillons

Considérer tout prélèvement comme potentiellement infectieux et le manipuler en respectant les mesures de biosécurité adéquates.

Plasma

1. Prélever le plasma par ponction veineuse, le recueillir dans un tube de prélèvement (contenant respectivement de l'EDTA, du citrate ou de l'héparine).
2. Séparer le plasma par centrifugation.
3. Introduire avec précaution le plasma dans un tube neuf et étiqueté.

Sérum

1. Prélever le sérum par ponction et le recueillir dans un tube de prélèvement (ne contenant pas d'anti-coagulants, d'EDTA, de citrate ou d'héparine).
2. Laisser le sang coaguler.
3. Séparer le sérum par centrifugation.
4. Introduire avec précaution le sérum dans un tube neuf et étiqueté

Analyser le prélèvement juste après l'avoir recueilli. Dans le cas où les prélèvements ne sont pas analysés de suite, conserver ceux-ci à une température comprise entre 2 et 8°C jusqu'à 5 jours. Pour une conservation plus longue, congeler les prélèvements à une température inférieure à -20°C.

Ne pas répéter les cycles de congélation-décongélation. Amener les prélèvements congelés à température ambiante avant de réaliser le test et mélanger ceux-ci avec précaution. Les échantillons présentant un précipité doivent être centrifugés avant d'être testés. Ne pas utiliser d'échantillons lipémiques, hémolytiques ou présentant une turbidité qui pourraient fausser les résultats.

Sang total

L'échantillon de sang total peut être obtenu par ponction au doigt ou veineuse. Ne pas utiliser de sang hémolysé pour les tests.

Les échantillons de sang total doivent être conservés à une température de 2°C à 8°C s'ils ne sont pas immédiatement

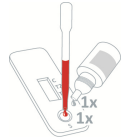
utilisés. Les échantillons doivent être utilisés dans les 24 heures après le prélèvement.

9. Exécution du test

1. Amener les échantillons et les composants du test à température ambiante s'ils ont été réfrigérés ou congelés. Bien mélanger les échantillons avant exécution du test.
2. N'ouvrir l'emballage que quand vous êtes prêts à procéder à la réalisation du test. Déposer la cassette sur une surface propre et plane. Marquer le test avec le numéro d'identification de l'échantillon.

3. a) Pour le sang total

- Déposer une goutte de sang total (env. 40-50 µl) dans le puits de dépôt (S) de la cassette.



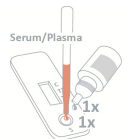
- Ajouter immédiatement une goutte (env. 35-50 µl) de solution de dilution au prélèvement. Eviter la formation de bulles d'air.



b) Pour le sérum et le plasma

- Remplir la pipette en plastique de prélèvement.

- Tenir la pipette à la vertical et ajouter 1 goutte (env. 30-45 µl) de prélèvement dans le puits de dépôt (S) de la cassette.



- Ajouter immédiatement (env. 35-50 µl) une goutte de solution de dilution. Eviter la formation de bulles d'air.

4. Démarrer le chronomètre.

5. Lire le résultat après 15 minutes. Les résultats de test positifs peuvent être lus au bout d'une minute.



Ne pas lire les résultats après 20 minutes. Eliminer la cassette après interprétation des résultats afin d'éviter toute confusion.

10. Interprétation des résultats

Positif à IgM anti-*M. Tb*:

En plus d'une ligne à hauteur de la zone de contrôle (C), une ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de test (M), cette ligne indique la présence d'IgM anti-*M. Tb*.



Positif à IgG anti-*M. Tb*

En plus de la ligne de contrôle (C) une ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de test (G). Cette ligne indique la présence d'IgG anti-*M. Tb*.



Positif aux IgG ET IgM anti-*M. Tb* :

En plus de la ligne de contrôle (C), deux lignes colorées apparaissent à hauteur de la zone de test M et G. Ces lignes indiquent la présence d'IgG et d'IgM anti-*M. Tb*.



Les résultats positifs doivent être confirmés à l'aide de méthodes alternatives et d'analyses cliniques avant d'établir un diagnostic positif.

Résultat négatif :

Seule la ligne de contrôle rouge (C) apparaît. L'absence des lignes de test M et G indique qu'aucun anticorps anti-*M. Tb* n'a été détecté.



Résultat non-valide :

L'absence de la ligne de contrôle (C) indique une erreur dans la manipulation du test. Cette observation est valable même si une ligne à hauteur de la zone de test apparaît. Réaliser de nouveau l'analyse avec un nouveau test.



Remarque : Un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou un réactif périmé sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle. Relire le déroulement de la manipulation et refaire le test. Dans le cas où le problème persiste, ne pas réutiliser le kit et se mettre en contact avec le distributeur.

11. Contrôle qualité

La bandelette contient une procédure de contrôle interne. La ligne apparaissant à hauteur de la zone de contrôle est considérée comme une procédure de 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. Performance du test

1. Performance clinique du test IgM

Une totalité de 200 prélèvements de patients non touchés par la tuberculose et de 35 prélèvements de patients ayant suivi un traitement aux médicaments anti-Tb ont été analysés à l'aide des tests NADAL® Tuberculosis IgG/IgM et un test ELISA IgM Tb disponible dans le commerce. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

| ELISA IgM | NADAL® Tuberculosis IgG/IgM | | Total |
|-----------|-----------------------------|---------------|-------|
| | Positif (IgM) | Négatif (IgM) | |
| Positif | 30 | 5 | 35 |
| Négatif | 7 | 193 | 200 |
| Total | 37 | 198 | 235 |

Sensibilité relative : 85,7%

Précision relative 96,5%

Concordance générale : 94,9%

2. Performance clinique du test IgG

Une totalité de 200 prélèvements de patients non touchés par la tuberculose et de 35 prélèvements de patients ayant suivi un traitement aux médicaments anti-Tb ont été analysés à l'aide des tests NADAL® Tuberculosis IgG/IgM et un test ELISA IgG Tb disponible dans le commerce. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

| ELISA IgG | NADAL® Tuberculosis IgG/IgM | | Total |
|-----------|-----------------------------|---------------|-------|
| | Positif (IgG) | Négatif (IgG) | |
| Positif | 31 | 4 | 35 |
| Négatif | 7 | 193 | 200 |
| Total | 38 | 197 | 235 |

Sensibilité relative : 88,6%

Précision relative 96,5%

Concordance générale 95,3%

13. Limites du test

- Les paragraphes "Execution du test" et "Interpretation des résultats" doivent être strictement respectés pour l'analyse de la présence d'anticorps anti-*M. Tb* dans le sérum, le plasma ou le sang total. Une négligence lors de l'exécution du test peut mener à des résultats faussés.
- Le test NADAL® Tuberculosis IgG/IgM est réservé au dépistage qualitatif des IgM et IgG anti-*M. Tb* dans le sérum, le plasma ou le sang total. L'intensité de la couleur de la ligne de test n'a aucun lien avec la concentration d'anticorps dans les prélèvements.
- Le test détecte également les anticorps anti-*M. bovis* et anti-*M. africanum*.
- Les individus vaccinés au BCG peuvent être détectés positifs aux IgG.
- Un résultat négatif indique qu'aucun anticorps anti-*M. Tb* n'a été détecté dans les prélèvements. Un résultat négatif n'exclut cependant pas la possibilité d'une exposition anti-*M. Tb* ou d'une infection à *M. Tb*.
- Un résultat négatif est également possible quand le nombre d'anticorps anti-*M. Tb* présent dans le prélèvement
- L'état immunodéprimé tel que l'infection au VIH peuvent influencer la sensibilité du test.
- Les prélèvements qui présentent une concentration anormale en anticorps hétérophiles ou en facteurs rhumatoïdes peuvent influencer les résultats attendus.
- Les résultats obtenus à l'aide de ce test doivent être interprétés à l'aide d'autres procédures de diagnostique et par des analyses cliniques.

14. Bibliographie

- Schaaf, H. S., P. Botha, N. Beyers, R. P. Gie, H. A. et, al 1996. The 5-year outcome of multidrug resistant tuberculosis patients in the Cape Province of South Africa. Trop. Med. Int. Health 1:718-722
- Havir, D. V., and P. F. Barnes. 1999. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. N. Engl. J. Med. 340:367-373
- Dye L, Scheele S, V. Pathania, et al: 1999 Global Burden of Tuberculosis Estimated Incidence, Prevalence, and Mortality by Country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA. 282:677-686.
- Kochi, A. 1991 The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. Tubercle 72:1-6
- Merlin TL, Gibson DW, and DH Connor 1994. Tuberculosis, p. 400-404 in Rubein E and Farber JL (ed)-Pathology, 2nd edition. J.B. Lippincott Company
- Daniel, T. M. 1996. Immunodiagnosis of tuberculosis, p. 223-231. In W. N. Rom, and S. Garay (ed.), Tuberculosis. Letter, Brown & Co., Boston, Mass.
- Wilkins, E. G. L. 1994. The serodiagnosis of tuberculosis, p. 367-379. In P. D. O. Davies (ed.), Clinical tuberculosis. Chapman & Hall, Ltd., London, England.
- Chan ED., Heifets L., and MD Iseman. 2000 Immunological Diagnosis of tuberculosis: a review. Tuber. Lung Dis. 80: 131-140.
- Foulds, J., and R. O'Brien. 1998. New tools for the diagnosis of tuberculosis: the perspective of developing countries. Int. J. Tubercle. Lung Dis. 2: 778-783

Rev.2, 2015-11-25 PF

1. Uso previsto

El test NADAL® Tuberculosis IgG/IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección simultánea y diferencial de IgM e IgG anti-*Mycobacterium Tuberculosis* (*M. Tb*) en suero, plasma y sangre humanos. Está previsto para su uso como test de detección y como ayuda al diagnóstico de la infección con *M. Tb*. Cualquier muestra que reaccione con el test NADAL Tuberculosis IgG/IgM debe confirmarse con métodos de prueba alternativos y otros análisis clínicos.

2. Introducción y significado clínico

La tuberculosis (TB) es una enfermedad crónica y transmisible, principalmente por el *M. Tb hominis* (bacilo de Koch), y ocasionalmente por el *M. Tb. bovis*. Los pulmones son el principal objetivo, aunque la infección puede afectar a cualquier órgano.

El riesgo de una infección por TB se redujo exponencialmente en el siglo XX. Sin embargo, la reciente aparición de cepas de bacterias resistentes a los medicamentos, particularmente entre pacientes con sida, ha despertado de nuevo el interés en la TB. Se ha detectado que la incidencia de la infección es de cerca de 8 millones de casos al año, con una tasa anual de mortalidad de 3 millones. En algunos países africanos con altas tasas de VIH, la mortalidad excede el 50%.

Las primeras sospechas clínicas y síntomas radiográficos, con la consecuente confirmación del laboratorio de referencia mediante el examen y cultivo del esputo son los métodos tradicionales en la diagnosis de la TB activa. A pesar de ello, estos métodos carecen de sensibilidad, o consumen mucho tiempo, y, además, no están disponibles para pacientes que no pueden producir un buen esputo, negativos dudosos o sospechosos de tener una TB extra pulmonar.

El test NADAL Tuberculosis IgG/IgM está diseñado para evitar estos obstáculos. El test detecta anti-*M. Tb* IgM e IgG en suero, plasma o sangre en 15 minutos. Un resultado positivo en IgM indica una infección reciente por *M. Tb*, mientras que un positivo en IgG sugiere una infección anterior o crónica. Utilizando los antígenos específicos *M. Tb*, también detecta anti-*M. Tb* IgN en pacientes vacunados con BCG. Además, el test puede ser usado por personal no profesional o mínimamente cualificado, y sin un equipo de laboratorio demasiado desarrollado.

3. Principio del test

El test NADAL® TB IgG/IgM es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El casete de test está formado por: 1) una almohadilla coloreada con conjugado que contiene antígenos *M. Tb* conjugados con oro coloidal (conjugados de *M. Tb*.) y conjugados de oro con IgG de conejo, 2) una tira o membrana de nitrocelulosa que contiene dos líneas de test (M y G) y una línea de control (C). La línea M está precubierta con anticuerpos monoclonales anti- IgM humana para la detección de IgM anti-*M. Tb*, la línea G está cubierta con anticuerpos para la detección de IgG anti-*M. Tb* y la línea C está recubierta con IgG anti-conejo.

Cuando se añade un volumen adecuado de la muestra en el pocillo correspondiente del casete, la muestra migra mediante acción capilar a través del dispositivo. Si en la muestra hay IgM anti-*M. Tb*, se unirán a los conjugados *M. Tb*. El inmunocomplejo es capturado por los anticuerpos anti-IgM humano

precubiertos en la membrana, formando una línea M coloreada, indicando un resultado positivo para IgM anti-*M. Tb*.

Si en la muestra hay IgG anti-*M. Tb*, se unirán a los conjugados de *M. Tb*. El inmunocomplejo es capturado entonces por los anticuerpos precubiertos en la membrana, formando una línea coloreada G, indicando un resultado positivo para IgG anti-*M. Tb*.

La ausencia de cualquiera de las líneas de test (G y M) sugiere un resultado negativo. El test contiene un control interno (línea C). Independientemente de que aparezcan o no las líneas de test, debe aparecer siempre una línea coloreada C, formada por el inmunocomplejo del conjugado de IgG de cabra anti-conejo/IgG de conejo con oro. Si no aparece esta línea C, el test no se puede considerar como válido, y se debe repetir la prueba con un casete nuevo.

4. Reactivos y materiales provistos

- Cada kit contiene 30 casetes de test, envasados individualmente en una bolsa hermética con tres elementos cada uno:
 - 1 cassette de test
 - 1 pipeta de plástico
 - 1 desecante
- Diluyente de la muestra (1 bote, 5 mL)
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales requeridos pero no provistos

- Temporizador
- Sistema de lancetas para test de sangre

6. Advertencias y precauciones

- Solo para uso de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea detenidamente las instrucciones antes de la realización de los test. Si no se siguen los pasos indicados, se pueden producir resultados inadecuados.
- No abra el envase hasta que esté todo preparado para realizar el test.
- No use los test después de la fecha de caducidad.
- Lleve todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso (15°C-30°C).
- No sustituya ni mezcle los componentes de diferentes kits de test.
- No utilice muestras hemolizadas para el testado.
- Lleve ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de seguridad mientras maneje las muestras clínicas.
- Trate todas las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra riesgos microbiológicos durante todo el procedimiento, así como las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- No coma, beba ni fume en el área en que vaya a manipular las muestras o el kit.
- Deseche todas las muestras y los materiales usados en el test como desechos de riesgo biológico.
- Interprete los resultados de la prueba a los 15 minutos de añadir la muestra al pocillo del test. Una lectura de los resultados después de 15 minutos puede ofrecer resultados

erróneos. Si los positivos se pueden observar ya desde el primer minuto.

- No realice el test en una habitación con fuertes corrientes de aire, por ejemplo un ventilador eléctrico o aire acondicionado.

7. Preparación de los reactivos e instrucciones de almacenaje

Todos los reactivos se suministran listos para su uso. Almacene los test no usados a 2°C-30°C. Si se almacenan a 2°C-8°C, asegúrese de que todos los materiales del test se pongan a temperatura ambiente antes de abrirlos. El test se mantiene estable hasta la fecha de caducidad que está impresa en el envase. No congele el kit ni lo exponga a temperaturas superiores a 30°C.

8. Recolección de la muestra y preparación

Considere todos los materiales de origen humano como si fueran potencialmente infecciosos y manéjelos siguiendo los procedimientos de bioseguridad.

Plasma

1. Recolecte la muestra de sangre mediante punción venosa en un tubo recolector que contenga EDTA, citrato o heparina.
2. Separe el plasma mediante centrifugación.
3. Retire el plasma cuidadosamente e introdúzcalo en un tubo nuevo etiquetado.

Suero

1. Recoja la muestra de sangre mediante punción venosa en un tubo de recolección que no contenga anticoagulantes.
2. Permita que la sangre se coagule.
3. Separe el suero mediante centrifugación.
4. Deposite el suero cuidadosamente en un tubo nuevo etiquetado.

Analice las muestras inmediatamente después de su recolección. Si no se testan inmediatamente, puede almacenarlas a 2°C- 8°C hasta 5 días. Para almacenajes más largos, congélelas a -20°C.

Evite ciclos múltiples de congelado/descongelado. Antes de testar, lleve las muestras congeladas lentamente a temperatura ambiente y mézclelas bien. Si las muestras contienen partículas visibles de materia, clarifíquelas mediante centrifugado. No use muestras que presenten gran lipemia, gran hemólisis o turbidez para evitar interferencias en la interpretación de resultados.

Sangre completa

Las gotas de sangre pueden obtenerse mediante punción en la yema del dedo o venipunción. No use muestras de sangre hemolizada para el testado.

Si no va a analizar las muestras de sangre inmediatamente, almacénelas bajo refrigeración (2°C-8°C). Analice las muestras dentro de las 24 horas desde su recolección.

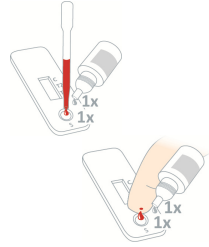
9. Procedimiento del ensayo

1. Lleve los componentes del test a temperatura ambiente si están refrigerados o congelados. Una vez descongelada la muestra, mézclela bien antes de realizar el ensayo.
2. Cuando esté todo preparado, abra el envase, retire el test y sitúelo sobre una superficie limpia y plana. Asegúrese de

haber rellenado la etiqueta con el número de identificación del paciente.

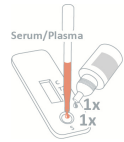
3. a) Para testar con sangre:

- Aplique una gota de sangre (aprox. 40-50 µL) en el pocillo del test (S).
- Después añada inmediatamente una gota (aprox. 35-50 µL) del diluyente de la muestra, asegurándose de que no se formen burbujas de aire.



b) Para testar con suero o plasma

- Llene el cuentagotas con la muestra.
 - Mantenga el gotero verticalmente y dispense una gota (aprox. 30-45 µL) de muestra en el pocillo correspondiente, evitando la formación de burbujas.
 - Añada inmediatamente 1 gota (aprox. 35-50 µL) del diluyente de la muestra, evitando la formación de burbujas.
4. Active el temporizador.
 5. Lea los resultados a los 15 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles en un minuto.



No lea los resultados después de 15 minutos. Para evitar la confusión deseche el test utilizado, tras interpretar los resultados.

10. Interpretación de los resultados

Positivo para IgM anti-*M. Tb*

Además de la línea de la región de control (C), aparece la línea M en la región de test, indicando la presencia de IgM anti *M. Tb*.



Positivo para IgG anti-*M. Tb*

Además de la línea de la región de control (C), aparece la línea G en la región de test, indicando la presencia de IgG anti *M. Tb*.



Positivo para IgM anti-*M. Tb* e IgG anti-*M. Tb*

Además de la línea de la región de control (C), aparecen ambas líneas de la región de test (G y M), indicando la presencia de IgM anti *M. Tb* e IgG anti *M. Tb*.



Las muestras con resultados positivos deben ser confirmadas con métodos alternativos de testado antes de dar un diagnóstico positivo definitivo.

Negativo

Solo aparece la línea de control (C). La ausencia de color en cualquiera de las líneas de test (G y M) indican que no se han detectado anticuerpos anti-*M. Tb*.

**No válido**

Cuando no aparece la línea de control (C), el ensayo no es válido, a pesar de que se desarrollen cualquiera de las otras líneas de test (G y M). Repita el ensayo con un nuevo test.



Nota: las causas más habituales de que no aparezca la línea de control (C), son un volumen de muestra insuficiente o una técnica de procedimiento inadecuada. Revise el procedimiento y repita el test con un nuevo casete. Si el problema persiste, deje de utilizar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.

11. Control de calidad

Este test contiene un control del procedimiento. Se trata de una línea coloreada que aparece en la región de control (C), y que 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. Características del rendimiento**1. Rendimiento clínico para el test IgM**

Un total de 200 muestras de pacientes sin TB y 35 muestras de pacientes bajo tratamiento contra TB se analizaron con este test y con un kit de ELISA IgM de otra marca comercial. La comparación de los resultados se muestra a continuación.

| ELISA IgM | Test NADAL® Tuberculosis IgG/IgMt | | Total |
|-----------|-----------------------------------|----------------|-------|
| | Positivo (IgM) | Negativo (IgM) | |
| Positivo | 30 | 5 | 35 |
| Negativo | 7 | 193 | 200 |
| Total | 37 | 198 | 235 |

Sensibilidad relativa: 85.7%

Especificidad relativa: 96.5%

Concordancia general: 94.9%

2. Rendimiento clínico para el test IgG

Un total de 200 muestras de pacientes sin TB y 35 muestras de pacientes bajo un tratamiento contra TB se analizaron con este test y con un kit comercial de ELISA TB IgG. La comparación de los resultados se muestra a continuación.

| ELISA IgG | Test NADAL® Tuberculosis IgG/IgM | | Total |
|-----------|----------------------------------|----------------|-------|
| | Positivo (IgG) | Negativo (IgG) | |
| Positivo | 31 | 4 | 35 |
| Negativo | 7 | 193 | 200 |
| Total | 38 | 197 | 235 |

Sensibilidad relativa: 88,6%

Especificidad relativa: 96,5%

Concordancia general: 95,3%

13. Limitaciones

- Siga detenidamente las instrucciones indicadas en el apartado Procedimiento del test e Interpretación de los resultados para la detección de anticuerpos de *M. Tb* en suero, plasma y sangre. Un fallo en el procedimiento puede llevar a resultados no apropiados.
- Este test está limitado a la detección cualitativa de IgG anti-*M. Tb* e IgM anti-*M. Tb* en suero, plasma y sangre humanos. La intensidad de la línea de test no tiene una correlación lineal con la concentración de anticuerpos en la muestra.
- El test también detecta los anticuerpos de *M. Bovis* y *M. africanum*.
- Las personas que hayan sido vacunadas contra BCG pueden tener resultados positivos de IgG.
- Un resultado negativo para una persona concreta indica que no se pudieron detectar anticuerpos contra *M. Tb*. De todas maneras, un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición o de infección de *M. Tb*.
- Un resultado negativo puede suceder si la cantidad de anticuerpos de *M. Tb* presentes en la muestra está por debajo de los límites de detección del ensayo, o si los anticuerpos no están presentes durante la etapa en que la muestra ha sido recolectada.
- Un estado débil del sistema inmunológico, como una infección por VIH, puede reducir la sensibilidad del test.
- Algunas muestras con concentraciones inusualmente altas de anticuerpos heterófilos o factores reumatoides pueden afectar a los resultados esperados.
- Los resultados obtenidos con este test deben interpretarse en conjunto con otros procedimientos diagnósticos.

14. Bibliografía

- Schaaf, H. S., P. Botha, N. Beyers, R. P. Gie, H. A. et, al 1996. The 5-year outcome of multidrug resistant tuberculosis patients in the Cape Province of South Africa. Trop. Med. Int. Health 1:718-722
- Havir, D. V., and P. F. Barnes. 1999. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. N. Engl. J. Med. 340:367-373
- Dye L., Scheele S., V. Pathania, et al: 1999 Global Burden of Tuberculosis Estimated Incidence, Prevalence, and Mortality by Country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA. 282:677-686.
- Kochi, A. 1991 The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. Tubercle 72:1-6
- Merlin TL, Gibson DW, and DH Connor 1994. Tuberculosis, p400-404 in Rubein E and Farber JL (ed)-Pathology, 2nd edition. J.B. Lippincott Company
- Daniel, T. M. 1996. Immunodiagnosis of tuberculosis, p. 223-231. In W. N. Rom, and S. Garay (ed.), Tuberculosis. Letter, Brown & Co., Boston, Mass.
- Wilkins, E. G. L. 1994. The serodiagnosis of tuberculosis, p. 367-379. In P. D. O. Davies (ed.), Clinical tuberculosis. Chapman & Hall, Ltd., London, England.
- Chan ED., Hefets L, and MD Iseman. 2000 Immunological Diagnosis of tuberculosis: a review. Tuberc. Lung Dis. 80: 131-140.
- Foulds, J., and R. O'Brien. 1998. New tools for the diagnosis of tuberculosis: the perspective of developing countries. Int. J. Tubercle. Lung Dis. 2: 778-783

Rev.2, 2015-11-25 MP

1. Zastosowanie

Test NADAL® Tuberkuloza IgG/IgM jest immunochromatograficznym testem typu Lateral Flow do jednoczesnego oznaczania i różnicowania anty-*Mycobacterium Tuberculosis (M.Tb)* IgM oraz IgG w ludzkiej surowicy, osoczu lub krwi pełnej. Test przewidziany jest jako test skriningowy i służy jako środek pomocniczy do diagnozowania infekcji *M.Tb*. Każda reaktywna próbka z testem NADAL® Tuberkuloza IgG/IgM, musi zostać potwierdzona przez alternatywne metody testowe i wyniki kliniczne.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Tuberkuloza (Tb) jest przewlekłą, zakaźną chorobą, która głównie wywoływana jest przez *M.Tb hominis* (prątek gruźlicy), ale także czasami przez *M.Tb bovis*. Najczęściej atakowane są płuca, jednak inne organy również mogą być zakażone.

W XX wieku ryzyko infekcji Tb gwałtownie spadło. Niedawne pojawienie się szczepów opornych na antybiotyki bakterii¹, zwłaszcza u pacjentów z AIDS², wzbudziło ponownie zainteresowanie Tb. Co roku odnotowanych zostaje ok. 8 milionów przypadków infekcji, z czego roczna stopa umieralności to 3 miliony. W niektórych afrykańskich krajach, o wysokiej stopie procentowej HIV^{3,4}, śmiertelność przekracza 50%.

Pierwsze kliniczne podejrzenie oraz wyniki badania rentgenowskiego, z późniejszym potwierdzeniem laboratoryjnym przez badanie płwocin i kultur, to standardowe metody do diagnozowania aktywnej Tb.^{5,6} Metody te są zazwyczaj nie wystarczająco czułe, jak i czasochłonne, a w szczególności nie nadają się dla pacjentów, których wyraz jest negatywny lub dla pacjentów, którzy nie są w stanie wytworzyć wystarczającej ilości płwociny, lub u których istnieje podejrzenie pozapłucnej Tb.

Test NADAL® Tuberkuloza IgG/IgM został stworzony, aby ominąć te przeszkody. Test wykrywa po 15 minutach anty-*M.Tb*-IgM i -IgG w surowicy, osoczu lub krwi pełnej. Pozytywny wynik IgM wskazuje na świeżą infekcję *M.Tb*, podczas gdy pozytywny wynik IgG wskazuje na przebytą lub przewlekłą infekcję. Test NADAL® Tuberkuloza IgG/IgM wykrywa również anty-*M.Tb*-IgM u pacjenta, który zaszczepiony został przy zastosowaniu BCG przez specyficzny antygeny *M.Tb*⁷⁻⁹. Dodatkowo test ten może być wykonywany przez nieprzeszkolonych lub mało wyszkolonych pracowników, bez konieczności użycia drogiego sprzętu laboratoryjnego.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Tuberkuloza IgG/IgM jest immunochromatograficznym testem typu Lateral Flow. Kasetę testową składa się z: 1) kolorowej płytki koniugatu, która zawiera sprzężone koloidalnym złotem antygeny *M.Tb* (Koniugaty *M.Tb*) i królicze IgG koniugowane złotem. 2) membranowego paska z nitrocelulozy, który zawiera dwie linie testowe M i G oraz linię kontrolną C. Linia testowa M wstępnie powleczone jest monoklonalnym anty-ludzkim IgM do oznaczania anty *M.Tb*-IgM, linia testowa G wstępnie powleczone jest przeciwciałami do oznaczania anty *M.Tb*-IgG, a linia kontrolna C jest wstępnie powleczone kożymi-anty-króliczymi IgG.

Jeżeli do zagłębienia na próbkę (S) kasety testowej dodana zostanie wystarczająca ilość próbki, to próbka wędrować

będzie przy pomocy sił kapilarnych wzdłuż kasety testowej. Jeżeli w próbce znajdują się anty *M.Tb*-IgM, to wiążą się one z koniugatami *M.Tb*. Kompleks immunologiczny związany zostaje wtedy na membranie przez wstępnie powleczone anty-ludzkie IgM i wytwarza kolorową linię M, co oznacza, że wynik testu jest pozytywny dla *M.Tb*-IgM.

Jeżeli w próbce zawarte są anty *M.Tb*-IgG, wiążą się one z koniugatami *M.Tb*. Kompleks immunologiczny związany zostaje wtedy na membranie przez wstępnie powleczone przeciwciała i wytwarza kolorową linię G, co oznacza, że wynik testu jest pozytywny dla *M.Tb*-IgG.

Jeżeli nie pojawiły się linie testowe (G i M) to wynik testu jest negatywny. Test zawiera wewnętrzną kontrolę (linia C) immunokompleksu składającego się z kozich-anty-króliczych IgG / koniugatu złota króliczych IgG, która powinna pojawić się zawsze, niezależnie od rozwoju kolorów. Jeżeli linia nie pojawi się, to wynik testu jest nieważny i próbka powinna być przebadana przy pomocy innego testu.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 30 testów kasetowych, w pojedynczych opakowaniach foliowych, zawierające trzy elementy:
 - 1 kasetę testową
 - 1 plastikową pipetę
 - 1 środek osuszający
- Środek rozcieńczający (1 buteleczka, 5ml)
- Instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Zegar albo stoper
- Lanceta do badania krwi pełnej

6. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi. Nieprzestrzeganie instrukcji obsługi może prowadzić do niewłaściwych wyników testu.
- Zamknięte opakowanie foliowe otworzyć w momencie rozpoczęcia testu.
- Nie używać przeterminowanych testów.
- Przed przeprowadzeniem badania doprowadzić wszystkie odczynniki do temperatury pokojowej (15-30°C).
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Do badania nie używać próbek hemolizowanej krwi.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Wszystkie próbki traktować, jako niebezpieczne dla zdrowia i obchodzić się z nimi, jak z zakaźnym materiałem badawczym. Stosować się do istniejących środków ostrożności oraz przestrzegać standardowych procedur dotyczących utylizacji odpadów próbek.
- Nie jeść, nie pić i nie palić papierosów w obszarze, w którym pracuje się z próbkami oraz zestawami testowymi.
- Wszystkie próbki i materiały, które użyte zostały do przeprowadzenia badania, należy utylizować jak, potencjalnie niebezpieczny materiał biologiczny.
- Wynik powinien zostać odczytany po upływie 15 minut, licząc od dodania próbki do zagłębienia próbki (S) kasety

testowej. Wyników nie odczytywać po upływie więcej niż 15 minut. Pozytywne wyniki testu mogą być widoczne już w ciągu jednej minuty.

- Testu nie przeprowadzać w pomieszczeniach o silnym ruchu powietrza, spowodowanym np. przez wentylatory lub silną klimatyzację.

7. Data ważności i przechowywanie odczynników

Wszystkie dostarczone odczynniki są gotowe do użycia. Przechowywać nowe, nieotwarte testy w temperaturze 2-30°C. Podczas przechowywania w temperaturze pomiędzy 2°C a 8°C należy upewnić się, że przed otwarciem testy zostaną przywrócone do temperatury pokojowej. Testy są stabilne do daty użyteczności podanej na opakowaniu. Nie zamrażać zestawów testowych i nie poddawać temperaturze powyżej 30°C.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Traktować wszystkie materiały ludzkiego pochodzenia, jako potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi, stosując się do ogólnie obowiązujących przepisów dotyczących zagrożeń biologicznych.

Osocze

1. Poprzez nakłucie żylną, pobrać próbkę krwi do probówki, która zawiera EDTA, cytrynian lub heparynę.
2. Oddzielić osocze przez odwirowanie.
3. Ostrożnie dodać osocze do nowej, opisanej probówki.

Surowica

1. Poprzez nakłucie żylną, pobrać próbkę krwi do probówki, która zawiera EDTA, cytrynian lub heparynę.
2. Pozwolić krwi zakrzepnąć.
3. Oddzielić surowicę przez odwirowanie.
4. Ostrożnie dodać surowicę do nowej, opisanej probówki zbiorczej.

Próbki powinny być zbadane bezpośrednio po ich pobraniu. Jeżeli próbki nie zostaną przebadane bezpośrednio, mogą one być przechowywane przy temperaturze 2-8°C do 5 dni. Przy długotrwałym przechowywaniu próbki powinny zostać zamrożone do temperatury -20°C.

Unikać ponownych cykli zamrażania i rozmrażania. Przed rozpoczęciem testu, zamrożone próbki powoli doprowadzić do temperatury pokojowej i ostrożnie wymieszać. Próbki zawierające widoczne cząsteczki, powinny zostać odwirowane przed przeprowadzeniem testu. Nie używać próbek, które wykazują wyraźne lipemie, hemolizy lub zmętnienia, aby uniknąć niezgodności podczas interpretowania wyników.

Krew pełna

Kilka kropli krwi pełnej może zostać pobrane z nakłucia palca lub żyły. Nie używać hemolizowanej krwi.

Próbki z krwi pełnej powinny być przechowywane schłodzone (2-8°C), gdy nie są badane od razu. Próbki powinny być przebadane w ciągu 24 godzin, od momentu pobrania próbki.

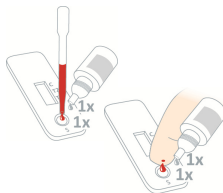
9. Przeprowadzanie testu

1. Doprowadzić próbkę i elementy testu do temperatury pokojowej, jeżeli te były schłodzone lub zamrożone. Przed przeprowadzeniem badania, próbkę dokładnie wymieszać.
2. W momencie gotowości do przeprowadzenia testu, otworzyć opakowanie foliowe i wyciągnąć kasetę testową.

Położyć kasetę testową na czystą i równą powierzchnię. Opisać kasetę testową numerem identyfikacyjnym.

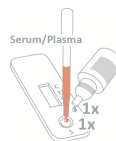
3. a) dla badania z krwi pełnej

- Dodać 1 kroplę krwi pełnej (ok. 40-50 µl) do zagłębienia próbki (S) na kasecie testowej.
- Niezwłocznie dodać 1 kroplę (ok. 35-50 µl) środka rozcieńczającego. Upewnić się, że nie wytworzyły się pęcherzyki powietrza.



b) dla badań z surowicy, osocza

- Napełnić plastikową pipetę próbką.
- Trzymać pipetę pionowo i dodać 1 kroplę (ok. 30-45 µl) próbki do zagłębienia próbki (S) na kasecie testowej.
- Niezwłocznie dodać 1 kroplę (ok. 35-50 µl) środka rozcieńczającego. Upewnić się, że nie wytworzyły się pęcherzyki powietrza.



4. Włączyć stoper.
5. Odczytać wynik po upływie 15 minut. Pozytywne wyniki testu mogą być widoczne już w ciągu jednej minuty.



Wyników nie odczytywać po upływie więcej niż 15 minut. Aby uniknąć nieporozumień, zutilizować test kasetowy po jego interpretacji.

10. Interpretacja wyników

Wynik pozytywny dla anty-M.Tb-IgM:

Dodatkowo do linii w obszarze linii kontrolnej (C) pojawi się kolorowa linia w obszarze linii testowej (M), która wskazuje na obecność anty *M. Tb*-IgM.



Wynik pozytywny dla anty-M.Tb-IgG:

Dodatkowo do linii w obszarze linii kontrolnej (C) pojawi się kolorowa linia w obszarze linii testowej (G), która wskazuje na obecność anty *M. Tb*-IgG.



Wynik pozytywny dla anty-M.Tb-IgG i -IgM:

Dodatkowo do linii w obszarze linii kontrolnej (C) pojawiają się kolorowe linie (G) i (M), które wskazują na obecność anty *M. Tb*-IgG i anty *M. Tb*-IgM.



Próbki z pozytywnymi wynikami powinny być potwierdzone alternatywnymi metodami i klinicznymi badaniami, przed postawieniem pozytywnego rozpoznania.

Wynik negatywny:

Pojawia się tylko linia kontrolna (C). Nieobecność linii testowych (G) i (M) wskazuje na to, że nie wykryto przeciwciał anty *M. Tb*.



Wynik nieważny:

Nieobecność linii kontrolnej (C), niezależnie od rozwoju koloru linii testowych (G) i (M), wskazuje na nieprawidłowe funkcjonowanie testu. Próbkę powinna być przebadana przy pomocy nowego testu.



Wskazówka: Niewystarczająca objętość próbki lub niewłaściwa technika wykonania testu, są najprawdopodobniejszymi powodami nie pojawienia się linii kontrolnej. W takim przypadku ponownie zapoznać się z procedurą przeprowadzania testu i przeprowadzić badanie przy użyciu nowego testu. W momencie, gdy problem będzie występował ponownie, nie stosować zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

11. Kontrola jakości

Pasek testowy zawiera kontrolę procesową. Pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) kolorowa linia, traktowana jest jako wewnętrzna kontrola procesowa. Potwierdza ona wystarczającą objętość próbki, właściwe wykonanie testu oraz wystarczające nasycenie membrany.

12. Charakterystyka testu**1. Wydajność kliniczna testu IgM**

Przebadano 200 próbek pacjentów bez tuberkulozy i 35 próbek pacjentów, którym podawano leki przeciwko tuberkulozie przy pomocy testu NADAL® Tuberkuloza IgG/IgM i komercyjnie dostępnego zestawu testowego TB IgM ELISA. Wyniki przedstawione zostały w poniższej tabeli.

| IgM ELISA | Test NADAL® Tuberkuloza IgG/IgM | | Suma |
|-----------|---------------------------------|-----------------|------|
| | Pozytywny (IgM) | Negatywny (IgM) | |
| Pozytywny | 30 | 5 | 35 |
| Negatywny | 7 | 193 | 200 |
| Suma | 37 | 198 | 235 |

Relatywna czułość: 85,7%

Relatywna dokładność 96,5%

Zgodność łącznie: 94,9%

2. Wydajność kliniczna testu IgG

Przebadano 200 próbek pacjentów bez tuberkulozy i 35 próbek pacjentów, którym podawano leki przeciwko tuberkulozie, przy pomocy testu NADAL® Tuberkuloza IgG/IgM i komercyjnie dostępnego zestawu testowego TB IgG ELISA. Wyniki przedstawione zostały w poniższej tabeli.

| IgG ELISA | Test NADAL® Tuberkuloza IgG/IgM | | Suma |
|-----------|---------------------------------|-----------------|------|
| | Pozytywny (IgG) | Negatywny (IgG) | |
| Pozytywny | 31 | 4 | 35 |
| Negatywny | 7 | 193 | 200 |
| Suma | 38 | 197 | 235 |

Relatywna czułość: 88,6%

Dokładność: 96,5%

Zgodność łącznie: 95,3%

13. Ograniczenia testu

- Podczas badania na obecność przeciwciał przeciwko *M.Tb* w surowicy, osoczu lub krwi pełnej, dokładnie stosować się

do informacji zawartych w punktach "Przeprowadzanie testu" i "Interpretacja wyników". Nie stosowanie się do wskazań, może prowadzić do błędnych wyników.

- Test NADAL® Tuberkuloza IgG/IgM przeznaczony jest to jakościowego oznaczania anty-*M.Tb*-IgG i anty-*M.Tb*-IgM w ludzkiej surowicy, osoczu lub krwi pełnej. Intensywność kolorów linii testowych nie ma żadnego liniowego związku z mianem przeciwciał w próbce.
- Test wykrywa również przeciwciała przeciwko *M. bovis* i *M. africanum*.
- Osoby, które szczepione były na BCG, mogą wykazywać pozytywny wynik testu IgG.
- Negatywny wynik testu wykazuje, że nie wykryto przeciwciał przeciwko *M.Tb*. Negatywny wynik testu nie wyklucza jednak ekspozycji na *M.Tb* lub infekcji *M.Tb*.
- Negatywny wynik jest możliwy również, jeżeli ilość przeciwciał przeciwko *M.Tb* zawarta w próbce znajduje się poniżej granicy wykrywalności testu lub jeżeli przeciwciała nie znajdowały się w próbce w tym stadium choroby, w którym próbka została pobrana.
- Stany osłabienia systemu odpornościowego jak np. infekcja HIV mogą wpłynąć na czułość testu.
- Próbki o niezwykle wysokim mianie przeciwciał heterofilnych lub czynników reumatoidalnych, mogą wpłynąć na oczekiwane wyniki.
- Osiągnięte przy pomocy tego testu wyniki powinny być interpretowane w połączeniu z innymi diagnostycznymi procesami i wynikami klinicznymi.

14. Bibliografia

- Schaaf, H. S., P. Botha, N. Beyers, R. P. Gie, H. A. et al. 1996. The 5-year outcome of multidrug resistant tuberculosis patients in the Cape Province of South Africa. Trop. Med. Int. Health 1:718-722
- Havir, D. V., and P. F. Barnes. 1999. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. N. Engl. J. Med. 340:367-373
- Dye L, Scheele S, V. Pathania, et al: 1999 Global Burden of Tuberculosis Estimated Incidence, Prevalence, and Mortality by Country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA. 282:677-686.
- Kochi, A. 1991 The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. Tubercle 72:1-6
- Merlin TL, Gibson DW, and DH Connor 1994. Tuberculosis, p400-404 in Rubein E and Farber JL (ed)-Pathology, 2nd edition. J.B. Lippincott Company
- Daniel, T. M. 1996. Immunodiagnosis of tuberculosis, p. 223-231. In W. N. Rom, and S. Garay (ed.), Tuberculosis. Letter, Brown & Co., Boston, Mass.
- Wilkins, E. G. L. 1994. The serodiagnosis of tuberculosis, p. 367-379. In P. D. O. Davies (ed.), Clinical tuberculosis. Chapman & Hall, Ltd., London, England.
- Chan ED., Helfets L, and MD Iseman. 2000 Immunological Diagnosis of Tuberculosis: a review. Tuber. Lung Dis. 80: 131-140.
- Foulds, J., and R. O'Brien. 1998. New tools for the diagnosis of tuberculosis: the perspective of developing countries. Int. J. Tubercle. Lung Dis. 2: 778-783

Rev.2, 2015-11-25 AM

1. Utilização Prevista

O teste rápido NADAL® Tuberculose IgG/IgM é um teste em “sandwich” de fluxo lateral imunocromatográfico para a detecção e diferenciação simultânea de IgM anti-*Mycobacterium Tuberculosis* (TB M.) e IgG anti-TB M. em soro, plasma e sangue total humano. Destina-se a ser utilizado como teste de triagem e como um auxílio no diagnóstico de infecção TB M. Qualquer modelo reactivo, com o teste NADAL® TB IgG/IgM, deve ser confirmado com método(s) de ensaio alternativo(s) e ensaios clínicos.

2. Introdução

A Tuberculose é uma doença crónica e transmissível, causada principalmente por *M. TB hominis* (bacilo de Koch) e ocasionalmente por *M. TB bovis*. Os pulmões são o alvo principal, mas qualquer órgão pode ser infectado.

O risco de infecção TB tem decrescido exponencialmente no século XX. No entanto, o aparecimento recente de raízes bacteriológicas resistentes¹ aos medicamentos, principalmente entre pacientes com SIDA², reapareceu o interesse na TB. A incidência de infecção foi relatada em aproximadamente 8 milhões de casos por ano. Em alguns países Africanos com elevadas taxas de HIV^{3,4}, a taxa de mortalidade é superior a 50%.

A suspeita clínica inicial e os achados radiológicos, com posterior confirmação laboratorial por exame do escarro e a cultura são o método tradicional no diagnóstico de TB^{5,6} activa. No entanto, esses métodos ou a falta de sensibilidade, ou são demorados ou em particular não são adequados aos pacientes que são incapazes de produzir o escarro, baciloscopia negativa, ou com suspeitas de sintomas de tuberculose extra-pulmonar.

O teste NADAL® Tuberculose IgG/IgM Combo é desenvolvido para aliviar esses obstáculos. O teste detecta anti-corpos IgM e IgG anti-M.TB no soro, plasma ou sangue total em 15 minutos. Um resultado IgM positivo indica uma infecção TB M. fresca, enquanto uma resposta IgG positivo sugere uma infecção prévia ou latente. Utilizando antígenos específicos da TB M., o teste também detecta IgM anti-Mtb em pacientes vacinados com BCG. Além disso, o teste pode ser realizado por pessoal não qualificado ou com um mínimo de capacidades, sem necessidade de utilização de equipamento de laboratório pesado.

3. Princípio do Teste

O NADAL® Tuberculose IgG/IgM Combo Rapid Test é um teste rápido de fluxo lateral, imunoenensaio cromatográfico. O dispositivo de teste consiste em: 1) uma membrana conjugada cor de vinho contendo antígenos TB M. conjugados com ouro coloidal (M.TB conjugados) e conjugados de coelho IgG-ouro, 2), uma tira de membrana de nitrocelulose contendo duas linhas de teste M e G e uma linha de controlo C. A linha M é revestida com IgM monoclonal anti-humano para a detecção de anti-TB M. IgM, a linha G é pré-revestida com reagentes para a detecção de anticorpos IgG anti-M.TB, e a linha C é pré-revestida com IgG de cabra anti-coelho.

Quando um volume adequado de amostra de teste é dispensado no orifício da cassette (S), a amostra migra por capilaridade na cassette. Se estiver presente na amostra IgM anti-M.TB irá ligar com os conjugados TB M. O

imunocomplexo é capturado na membrana do pré-revestido de anti-corpos IgM anti-humano, formando uma linha colorida M, indicando TB M. IgM, num resultado de teste positivo.

Se IgG anti- M.TB estiver presente na amostra, ligar-se-ão com os conjugados TB M. O imunocomplexo é então captado pelo reagente pré-revestido na membrana, formando uma linha colorida G, indicando um resultado positivo para TB M IgG.

Ausência das linhas (G e M), sugere um resultado negativo. Os testes contêm uma linha de controlo interno (linha C), que deve apresentar uma linha cor de vinho dos imunocomplexos de cabra anti IgG de coelho / conjugado de ouro IgG de coelho independentemente da criação de cor em qualquer uma das linhas de teste. Caso contrário, o exame é inválido e a amostra deve ser testada novamente por outro dispositivo.

4. Reagentes e Materiais Fornecidos

- 30 dispositivos de teste, embalados individualmente, contendo:
 - 1 dispositivo de teste cassette
 - 1 pipeta de plástico
 - 1 dessecante
- Diluente da amostra (1 frasco, 5 mL)
- Manual de utilização

5. Materiais Adicionais Necessários

- Relógio ou cronómetro
- Lanceta para o teste de sangue

6. Armazenamento e Conservação

Todos os reagentes estão prontos para utilizar. Armazenar os dispositivos de teste não utilizados e fechados entre 2-30°C. Os controlos positivos e negativos devem ser mantidos entre 2°C e 8°C, garantir que o dispositivo de teste é colocado à temperatura ambiente antes de abrir. Não congelar ou expor o kit a mais de 30°C.

7. Advertências e Precauções

- Apenas para diagnóstico *in-vitro*.
- O manual de instruções deve ser lido até ao fim antes de realizar o exame. O não seguimento das instruções pode levar a resultados inconclusivos.
- Não abrir a embalagem a não ser imediatamente antes da utilização do teste.
- Não utilizar depois da data de validade.
- Antes de utilizar, colocar os reagentes à temperatura ambiente (15-30°C).
- Não misturar componentes de diferentes kits como substituição para algum componente em falta.
- Não utilizar amostras de sangue hemolisadas.
- Usar vestuário de protecção e luvas descartáveis quando manusear os reagentes e as amostras clínicas. Lavar bem as mãos depois de realizar o teste.
- Os utilizadores do teste devem seguir as precauções universais do US CDC para a prevenção de transmissão do HIV, HBV e outras doenças transmissíveis pelo sangue.
- Não fumar, beber ou comer nas áreas onde as amostras ou os reagentes do kit sejam manuseados.
- Tratar todas as amostras e materiais utilizados para a realização do teste como resíduos de risco biológico.

- Tratar todos os testes, positivos e negativos, da mesma forma que as amostras.
- Os resultados do teste devem ser lidos dentro de 15 minutos após a amostra ser depositada no orifício de teste. Ler depois de 15 minutos pode dar falsos resultados.
- Não realizar o teste numa sala com um forte fluxo de ar, com ar condicionado ou ventilador.

8. Preparação, recolha e conservação da amostra

Considerar todos os materiais de origem humana como infecciosos e manuseá-los através dos procedimentos padrão de segurança.

Plasma

1. Recolher sangue através de punção venosa, para um tubo de ensaio Vacutainer® de tampa lílãs, azul ou verde (contendo EDTA, citrato ou heparina).
2. Separar o plasma por centrifugação.
3. Retirar cuidadosamente o plasma num novo tubo pré-rotulado.

Soro

1. Recolher a amostra de sangue através de punção venosa, para um tubo de ensaio de tampa vermelha Vacutainer® (não contendo anticoagulantes).
2. Deixar o sangue coagular.
3. Separar o soro por centrifugação.
4. Retirar cuidadosamente o soro para um novo tubo pré-rotulado.

Testar as amostras o mais rápido possível após a recolha. Armazenar entre 2°C a 8°C se não forem testadas de imediato.

Armazenar as amostras a 2-8°C até 5 dias. As amostras devem ser congeladas a -20°C, se não forem testadas de imediato.

Evitar múltiplos ciclos de congelamento e descongelamento. Antes de testar, colocar as amostras congeladas à temperatura ambiente e misturar delicadamente. Não utilizar amostras demonstrando lipemia bruta, hemólise bruta ou turbidez para evitar interferência na interpretação de resultados.

Sangue

As gotas de sangue podem ser obtidas via punção do dedo ou por punção venosa. Não utilizar sangue hemolisado para o teste.

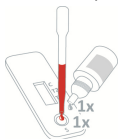
As amostras de sangue devem ser armazenadas em local fresco (2-8°C) se não forem utilizadas imediatamente. As amostras têm de ser testadas até 24h após a recolha.

9. Procedimento do teste

1. Deixar o teste e os seus componentes atingirem a temperatura ambiente se estiverem refrigerados ou congelados. Misturar bem a amostra antes do ensaio, depois de descongelado.
2. Quando estiver pronto para realizar o teste, abrir a embalagem e remover o dispositivo. Colocar numa superfície plana e limpa. Rotular o dispositivo para identificar a amostra.

3. a) Para o teste com sangue total

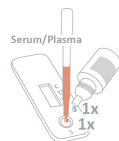
- Aplicar 1 gota de sangue total (cerca de 40-50 µL) no orifício para amostra no dispositivo de teste.



- Depois adicionar imediatamente 1 gota (cerca de 35-50 µL) de Diluente da Amostra.

b) Para o teste em Soro ou Plasma

- Encher a pipeta com a amostra.
- Segurar a pipeta na vertical, colocar 1 gota (cerca de 30-45 µL) da amostra no orifício da amostra no dispositivo de teste, certificando-se que não existem bolhas de ar.
- Depois adicionar de imediato 1 gota (35-50 µL) de Diluente da Amostra.
- 4. Iniciar a contagem do tempo.
- 5. Resultados podem ser lidos em 15 minutos. Resultados positivos podem ser visíveis em 1 minuto. Não interpretar os resultados depois de 15 minutos. Para evitar confusão, descartar o dispositivo teste depois de ver o resultado.



10. Interpretação dos resultados

Resultado positivo

Positivo para Anti-M.Tb-IgM:

Para além de uma linha em C, se apenas é formada uma linha em M, indica a presença de IgM anti-M.TB. O resultado é positivo.



Positivo para Anti-M.Tb-IgG:

Para além de uma linha em C, se apenas é formada uma linha em G, indica a presença de IgG anti-M.TB. O resultado é positivo.



Positivo para Anti-M.Tb-IgG und -IgM:

Para além de uma linha em C, formam-se linhas em G e M, indica a presença de IgG e IgM anti-M.TB. O resultado é positivo.



As amostras com resultados positivos devem ser confirmadas com métodos de ensaio alternativo(s) e constatações clínicas antes de uma determinação positiva ser feita.

Resultado negativo

Se apenas em C se formar uma linha, e nenhuma linha G e M indica que não foram detectados anticorpos anti-M.TB. O resultado é negativo.



Resultado inválido

Se não se formar uma linha C, o teste é inválido independentemente de se formar cor em qualquer linha G e M. Neste caso, deve repetir o teste com um novo dispositivo.



11. Controlo de Qualidade

O teste possui um controlo de procedimento incluído. Uma linha colorida que se desenvolve na região da linha de controlo (C) é considerada como um controlo de procedimento interno. Este confirma um volume de amostra suficiente, absorção na membrana adequada e uma técnica de procedimento correta.

12. Características de desempenho

1. Desempenho clínico para o teste IgM

Um total de 200 amostras de pacientes não-TB e 35 amostras de pacientes sob tratamento anti-tuberculose foram testados pelo Teste Rápido NADAL® Tuberculose IgG/IgM Combo e um comercial de TB IgM ELISA. Os resultados comparativos estão na tabela seguinte.

| IgM ELISA | Teste NADAL® Tuberculose IgG/IgM | | Total |
|-----------|----------------------------------|----------------|-------|
| | Positivo (IgM) | Negativo (IgM) | |
| Positivo | 30 | 5 | 35 |
| Negativo | 7 | 193 | 200 |
| Total | 37 | 198 | 235 |

Sensibilidade Relativa: 85.7%

Especificidade Relativa: 96.5%

Acordo Geral: 94.9%

2. Desempenho clínico para o Teste de IgG

Um total de 200 amostras de pacientes não-TB e 35 amostras de pacientes sob tratamento anti-tuberculose foram testados pelo Teste Rápido NADAL® Tuberculose IgG/IgM Combo e um comercial de TB IgG ELISA. Os resultados comparativos estão na tabela seguinte.

| IgG ELISA | Teste NADAL® Tuberculose IgG/IgM | | Total |
|-----------|----------------------------------|---------------|-------|
| | Positiv (IgG) | Negativ (IgG) | |
| Positivo | 31 | 4 | 35 |
| Negativo | 7 | 193 | 200 |
| Total | 38 | 197 | 235 |

Sensibilidade Relativa: 88.6%

Especificidade Relativa: 96.5%

Acordo Geral: 95.3%

13. Limitações

- O procedimento do teste e a interpretação de resultados devem ser seguidos de perto ao testar a presença de anticorpos para M. TB. no sangue, soro ou plasma de indivíduos. Não seguir os procedimentos adequados pode levar a resultados inconclusivos.
- O teste rápido Tuberculose IgG/IgM é limitado para a deteção qualitativa de anticorpos IgG e IgM anti-M.TB em sangue, soro ou plasma. A intensidade da linha do teste não está relacionado com a quantidade de anticorpos da amostra.
- O teste também reconhece anticorpos de M. bovis e M. africanum.
- Uma resposta positiva a IgG pode ser detectada em pessoal vacinado para BCG.
- Um resultado negativo para para um indivíduo indica a ausência dos anticorpos detectáveis para M. TB. Contudo,











um resultado negativo no teste não exclui a possibilidade de exposição ou infecção com M. TB

- Um resultado negativo pode ocorrer se a quantidade dos anticorpos de M. TB presentes na amostra for inferior ao limite de deteção do teste, ou de anticorpos que são detectados não estão presentes durante a fase da doença na qual a amostra é recolhida.
- Condição de imunocomprometidos, tais como a infecção pelo HIV pode reduzir a sensibilidade do teste. Se a co-infecção pelo HIV é altamente suspeita, o Teste Rápido TB Plus (R0055C) é altamente recomendável.
- Algumas amostras contêm títulos elevados de anticorpos heterofílicos ou factores reumatóides, podem afectar os resultados esperados.
- Os resultados obtidos com este teste só devem ser interpretados em conjunto com outros procedimentos de diagnóstico e constatações clínicas.

14. Referências

1. Schaaf, H. S., P. Botha, N. Beyers, R. P. Gie, H. A. et, al 1996. The 5-year outcome of multidrug resistant tuberculosis patients in the Cape Province of South Africa. Trop. Med. Int. Health 1:718-722
2. Havlir, D. V., and P. F. Barnes. 1999. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. N. Engl. J. Med. 340:367-373
3. Dye L., Scheele S., V. Pathania, et al: 1999 Global Burden of Tuberculosis Estimated Incidence, Prevalence, and Mortality by Country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA. 282:677-686.
4. Kochi, A. 1991 The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. Tubercle 72:1-6
5. Merlin TL, Gibson DW, and DH Connor 1994. Tuberculosis, p400-404 in Rubein E and Farber JL (ed)-Pathology, 2nd edition. J.B. Lippincott Company
6. Daniel, T. M. 1996. Immunodiagnosis of tuberculosis, p. 223-231. In W. N. Rom, and S. Garay (ed.), Tuberculosis. Letter, Brown & Co., Boston, Mass.
7. Wilkens, E. G. L 1994. The serodiagnosis of tuberculosis, p. 367-379. In P. D. O. Davies (ed.), Clinical tuberculosis. Chapman & Hall, Ltd., London, England.
8. Chan ED., Heifets L., and MD Iseman. 2000 Immunological Diagnosis of tuberculosis: a review. Tuberc. Lung Dis. 80: 131-140.
9. Foulds, J., and R. O'Brien. 1998. New tools for the diagnosis of tuberculosis: the perspective of developing countries. Int. J. Tubercle. Lung Dis. 2: 778-783

Rev.2, 2015-11-25 MNL

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

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

Our Teams

Germany:

Regensburg

Tel: +49 941 290 10-0

Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0

Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29

Free Tel: 0800 291 565

Fax: +49 290 10-50

Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18

Free Tel –UK: 0808 234 1237

Free Tel – IRE: 1800 555 080

Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240

France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720

Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82

Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux. Tel: 800 211 16

Lux. Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759

Free Tel: 900 938 315

Fax: +49 941 290 10-50

Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34

Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44

Free Tel: 00 800 491 15 95

Fax: +49 941 290 10-50

Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735

Tel. Verde: 800 849 230

Fax: +49 941 290 10-50

Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600

Free Tel: 0800 0222 890

Fax: +31 70 30 30 775

Free Fax: 0800 024 9519

Denmark:

Tel: +31 703075 603

Free Tel: +45 80 88 87 53

Tax: +31 703030 775

Laboratory Diagnostics Team:

Tel: +49 941 290 10-40

Fax: +49 941 290 10-50



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

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

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