

NADAL[®] Ebola Test (test cassette)

REF 2210001



DE Gebrauchsanweisung	2	SE Användarinstruktioner	21
EN Instruction for use	6	Symbols	27
FR Instructions d'utilisation	9	Our Teams	28
ES Instrucciones de uso	12		
IT Istruzioni per l'uso	15		
PL Sposób użycia	18		



1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® Ebola Test (Serum/Rachenabstrich) ist ein schneller chromatografischer Immunoassay für den qualitativen Nachweis des *Ebolavirus*-Antigens in humanem Serum und Rachenabstrichen. Der Test ist als Hilfsmittel für die Erkennung einer Ebola-Infektion bei fieberhaften Zuständen im Zusammenhang mit klinischen Informationen/Methoden und anderen diagnostischen *in-vitro*-Verfahren ausgelegt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Beim Ebolafieber (Ebola virus disease (EVD)), auch bekannt als hämorrhagisches Ebolafieber (EHF), handelt es sich um eine schwere, oft tödlich verlaufende und bisher sporadisch aufgetretene Krankheit bei Menschen und nichtmenschlichen Primaten (Affen, Gorillas und Schimpansen). Die Gattung *Ebolavirus* ist eine der drei Mitglieder der *Filoviridae*-Familie von RNA-Viren. Bei der Gattung *Ebolavirus* werden fünf Spezies voneinander unterschieden: *Zaire ebolavirus* (EBOV), *Sudan ebolavirus* (SUDV), *Reston ebolavirus* (RESTV), *Bundibugyo ebolavirus* (BDBV) und *Tai Forest ebolavirus* (TAFV). Bis zu 90% aller Ausbrüche werden vom *Zaire ebolavirus* verursacht.

3. Testprinzip

Der NADAL® Ebola Test ist ein schneller qualitativer membranbasierter Immunoassay für den Nachweis des *Ebolavirus*-Antigens VP40 in humanen Serum- und Rachenabstrichproben. Sobald die Probe in die Probenvertiefung gegeben wird, reagiert sie mit den anti-Ebola-Antikörpern, die auf Partikeln vorbeschichtet sind (anti-Ebola-Antikörper-Partikel-Komplexe). Das Gemisch wandert dann durch Kapillarkraft die Membran entlang.

Sobald die Antigene, die an die anti-Ebola-Antikörper-Partikel-Komplexe gebunden sind, den Testlinienbereich erreichen, reagieren sie mit dem Capture-Reagenz, den im Testlinienbereich der Membran immobilisierten anti-Ebola-Antikörpern, und bilden eine farbige Linie.

Das Auftreten einer farbigen Linie im Testlinienbereich deutet auf ein positives Ergebnis (Vorhandensein des Ebola-Antigens) hin, während ihre Abwesenheit auf ein negatives Ergebnis hinweist.

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

4. Bestandteile der Testpackung

- 20 NADAL® Ebola Testkassetten (enthalten Partikel, die mit anti-Ebola-Antikörpern beschichtet sind, sowie auf der Nitrozellulosemembran immobilisierte anti-Ebola-Antikörper und anti-Maus-IgG).
- 20 Transferpipetten
- 20 Extraktionsröhrchen
- Gemäß 93/42/EWG mitgeliefertes zusätzliches Material: 20 sterile Abstrichtupfer mit Polyester-Spitze CE 0086



Puritan Medical Products Company LLC
31 School Street

Guilford, Maine 04443-0149 USA
(bevollmächtigter EU-Repräsentant EMERGO
EUROPE, The Hague, The Netherlands)

- 1 Extraktionspuffer „Extraction buffer Ebola“ (10 ml)
- 1 Röhrchenhalter
- 1 Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Timer
- Material zur Probensammlung nur für Serum

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Der Test sollte ungeöffnet bei 4-30°C gelagert und bis zum auf dem verschlossenen Folienbeutel angegebenen Verfallsdatum verwendet werden. Die Testkassette muss bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Niemals Komponenten nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatums benutzen. Frieren Sie das Test-Kit nicht ein.

Die Testkassetten sind empfindlich gegenüber Licht und Feuchtigkeit. Deshalb niemals feuchte Kassetten verwenden oder Kassetten, deren Folienbeutel beschädigt ist.

Der Test sollte nach Öffnen des Folienbeutels umgehend oder maximal innerhalb einer Stunde durchgeführt werden.

Nach dem Öffnen des Pufferfläschchens kann der Extraktionspuffer („Extraction buffer Ebola“) bei 4-30°C drei Monate gelagert und bedenkenlos verwendet werden.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Tests nicht wiederverwenden.
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontamination zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigenes Extraktionsröhrchen verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Testkits umgegangen wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Sanitärzustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).

- Tupfer nicht verwenden, wenn seine Verpackung beschädigt ist.
- Feuchtigkeit und Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Alle Proben sind gemäß der entsprechenden Infektionsschutzmaßnahmen für Ebola, andere hämorrhagisches Fieber hervorrufende Viren oder Infektionskrankheiten zu entnehmen, zu handhaben und zu versenden.

Der Versand kann gemäß der Richtlinien des Absenders, Zollvorschriften bzw. der Anforderungen des empfangenden Labors erfolgen. Wenn die Proben transportiert werden müssen, sind sie im Einklang mit gesetzlichen Vorschriften für den Transport ätiologischer Erreger zu verpacken.

Serum

Nur humanes Serum verwenden, das gemäß der Herstelleranweisungen für das Material zur Probensammlung hergestellt und vorbereitet wurde.

Nur klare, hämolysefreie Proben verwenden.

Serum kann bei 2-8°C bis zu 3 Tage gelagert werden. Für eine längere Lagerung können die Proben bei unter -20°C aufbewahrt werden.

Alle Proben sind vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur zu bringen. Eingefrorene Proben vor der Testdurchführung vollständig auftauen und gut durchmischen. Proben nicht wiederholt einfrieren und auftauen.

Rachenabstriche

Proben nur bei Zimmertemperatur (15-30°C) verwenden.

Nur frisch gewonnene Rachenabstriche verwenden. Rachenabstriche nicht lagern oder einfrieren.

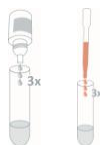
9. Testdurchführung

Bringen Sie Testkomponenten und Proben vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).

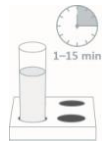
- Entnehmen Sie die Testkassette dem verschlossenen Folienbeutel und verwenden Sie sie so bald wie möglich. Der Test sollte innerhalb einer Stunde nach Öffnen des verschlossenen Folienbeutels durchgeführt werden.
- Platzieren Sie die Testkassette auf eine saubere und ebene Oberfläche.
- Versehen Sie die Testkassette mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation.
- Versehen Sie das Extraktionsröhrchen mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation und platzieren Sie es in den Röhrchenhalter.

A. Serum

1. Halten Sie das Extraktionspufferfläschchen senkrecht und geben Sie 3 Tropfen (ca. 100 µl) des Extraktionspuffers („Extraction buffer Ebola“) in das Extraktionsröhrchen. Verwenden Sie nur den mit diesem Test-Kit gelieferten Extraktionspuffer („Extraction buffer Ebola“).



2. Halten Sie die beiliegende Transferpipette senkrecht und geben Sie 3 Tropfen (ca. 100 µl) der Serumprobe in das Extraktionsröhrchen und dann lassen Sie die Lösung 1 bis 15 Minuten lang inkubieren.



3. Die Mischung ist nun für den Test bereit. Nehmen Sie die Mischung mit der beiliegenden Transferpipette auf. Halten Sie die Transferpipette senkrecht über die Probenvertiefung (S) der Testkassette und tropfen Sie die ganze Mischung in die Probenvertiefung (S). Warten Sie nach jedem Tropfen, bis dieser vollständig absorbiert ist, bevor Sie den nächsten hinzugeben. Starten Sie den Timer.



4. Werten Sie das Testergebnis nach 10 Minuten aus. Nach mehr als 15 Minuten keine Ergebnisse mehr ablesen.



B. Rachenabstriche

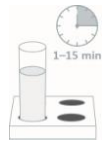
1. Halten Sie das Extraktionspufferfläschchen senkrecht und geben Sie 9 Tropfen des Extraktionspuffers („Extraction buffer Ebola“) in das Extraktionsröhrchen. Verwenden Sie nur den mit diesem Test-Kit gelieferten Extraktionspuffer („Extraction buffer Ebola“).
2. Führen Sie den beiliegenden sterilen Abstrichtupfer in die Mundhöhle des Patienten ein. Drücken Sie den Tupfer sehr sanft, bis ein Widerstand auf Höhe des Rachens zu spüren ist.
3. Drehen Sie vorsichtig den Abstrichtupfer mehrere Male gegen die Schleimhaut.



4. Führen Sie den Abstrichtupfer mit dem Rachenabstrich unverzüglich in das Extraktionsröhrchen ein, drücken Sie den Boden des Röhrchens zusammen und drehen Sie den Abstrichtupfer kräftig, um die Reagenzien mindestens 1 Minute lang zu mischen. Drücken Sie den Abstrichtupfer gegen die Innenseite des Röhrchens und pressen Sie so viel Flüssigkeit wie möglich aus dem Abstrichtupfer heraus, indem Sie den Faserteil des Abstrichtupfers unter Drehbewegungen gegen die Röhrchenwand drücken. Entsorgen Sie den Abstrichtupfer.



5. Lassen Sie die Mischung 1 bis 15 Minuten lang inkubieren.



6. Mischen Sie den Inhalt des Röhrchens erneut durch sanftes Schwenken.
7. Die Mischung ist nun für den Test bereit. Nehmen Sie die Mischung mit der beiliegenden Transferpipette auf. Halten Sie die Transferpipette über die Probenvertiefung (S) der Testkassette und geben Sie 6 Tropfen in die



Probenvertiefung (S). Warten Sie nach jedem Tropfen, bis dieser vollständig absorbiert ist, bevor Sie den nächsten hinzugeben. Starten Sie den Timer.

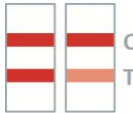
8. Werten Sie das Testergebnis nach 10 Minuten aus. Nach mehr als 15 Minuten keine Ergebnisse mehr ablesen.



10. Testauswertung

Positiv:

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



Jede sichtbare farbige Linie, die im Testlinienbereich (T) erscheint, sollte als positiv interpretiert werden, auch wenn die Testlinie heller oder dunkler als die Linie im Kontrolllinienbereich (C) ist.

Negativ:

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



Ungültig:

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



Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint. Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit ihrem Distributor in Verbindung.

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle:

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

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Ebola Test wurde für den qualitativen *in-vitro*-diagnostischen Nachweis des Ebola Virus-Antigens VP40 in humanem Serum und Rachenabstrichproben entwickelt. Andere Körperflüssigkeiten und Probenmischungen können zu ungenauen Ergebnissen führen und sollten nicht verwendet werden.
- Der NADAL® Ebola Test sollte nur mit Proben von Patienten mit Verdacht auf Ebola-Infektionen (fieberhafte Erkrankungen) als Hilfsmittel zur Erkennung des hämorrhagischen Ebolafiebers verwendet werden. Der Test sollte nicht als einziges Kriterium zur Diagnose einer Ebola-Infektion herangezogen werden.
- Der NADAL® Ebola Test weist die Anwesenheit von Ebola-Virionen bei Konzentrationen $\geq 10^6$ PFU/ml in der Probe

nach. Daher sollte der Test nicht zum Ausschluss einer Ebola-Infektion herangezogen werden.

- Die Ergebnisse dürfen nur von einem Arzt interpretiert werden.
- Die Ergebnisse sollten nur zusammen mit klinischen Informationen/Symptomen/Methoden und anderen *in-vitro*-Diagnoseverfahren (z. B. PCR-Techniken) verwendet werden.
- Die Intensität der farbigen Linie im Testlinienbereich korreliert nicht mit dem Antigentiter in der Probe.
- Ein negatives Ergebnis schließt zu keiner Zeit eine mögliche Ebola-Infektion aus.
- Ein positives Ergebnis sollte mithilfe einer anderen Methode bestätigt werden und das Ergebnis wiederum ist unter Berücksichtigung der allgemeinen klinischen Beurteilung zu bewerten.
- Falsch positive bzw. falsch negative Ergebnisse können verursacht werden durch:
 - unzureichendes Probenvolumen oder inkorrekte Verfahrenstechnik
 - Verwendung von ungeeigneten Proben oder Materialien (anderer Puffer als der im Testkit enthaltene, andere Proben- und Puffermengen als angegebene)
 - Missachtung der Inkubationszeit von min. 1 Minute für Proben und Extraktionspuffer
 - Missachtung der Wartezeit von 10 Minuten nach dem Auftragen der Mischung auf die Testkassette
- Niedrige Ebola-Titer können nach längerer Wartezeit zu einer schwachen Linie im Testlinienbereich führen.
- Bei einer hohen Antigenkonzentration in der Probe kann ein „Hook-Effekt“ zu falsch negativen Ergebnissen führen.
- Bis auf EDTA sind momentan keine Substanzen bekannt, die Kreuzreaktionen verursachen.

13. Leistungsmerkmale des Tests

Die Leistungsfähigkeit des NADAL® Ebola Tests wurde mit dem PCR-System RealStar® Ebolavirus RT-PCR Kit 1.0 anhand von Proben afrikanischer Patienten aus Conakry in Guinea verglichen.

		NADAL® Ebola Test		
		+	--	Total
PCR	+	12	1	13
	--	2	103	105
	Total	14	104	118

Analytische Sensitivität: \leq CT 23

Spezifität: 98%

14. Referenzen

1. Lucht A, Grunow R, Möller P, Feldmann H, Becker S: Development, characterization and use of monoclonal antibodies for the detection of Ebola virus. *J Virol Methods* 2003; 111:21-8
2. Grolla A, Lucht A, Dick D, Strong JE, Feldmann H: Laboratory diagnosis of Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Bull Soc Pathol Exot* 2005; 98:205-9
3. Becker S, Feldmann H, Will C, Slenczka W: Evidence of occurrence of filovirus antibodies in humans and imported monkeys: Do subclinical filovirus infections occur worldwide? *Med Microbiol Immunol* 1992; 181:43-55
4. World Health Organization. Outbreak(s) of Ebola hemorrhagic fever in the Republic of Congo, January-April 2003. *Wkly Epidemiol Rec* 2003; 78:285-9
5. Hartmann H, Lübbers B, Cararetto M, Bautsch W, Klos A, Köhl J. Rapid quantification of C3a and C5a using a combination of chromatographic and immunoassay procedures. *J Immunol Methods* 1993; 166:35-44

6. Ksiazek TG, Rollin PE, Jahrling PB, Johnson E, Dalgard DW, Peters CJ: Enzyme immunosorbent assay for Ebola virus antigens in tissues of infected primates. J Clin Microbiol 1992; 30:947-50
7. National Committee for Clinical Standards Clinical Waste Management: Approved Guideline. NCCLS Document GPS-A. Villanova, PA: NCCLS 1993; 13:1-18, 29-42
8. Townner JS, Rollin PE, Bausch DG, Sanchez A, Crary SM, Vincent M, Lee WF, Spiropoulou CF, Ksiazek TG, Lukwiya M, Kaducu F, Downing R, Nichol ST: Rapid diagnosis of ebola hemorrhagic fever by reverse transcription-PCR in an outbreak setting and assessment of patient viral load as a predictor of outcome. J Virol 2004; 78:4330-41

Rev. 0, 2015-05-26 OM/UJ

1. Intended Use

The NADAL® Ebola Test (serum/throat swab) is a rapid chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Ebolavirus* antigen in human serum or throat swabs. The test is intended to be used as an aid to detect Ebola infection in febrile conditions in conjunction with clinical information/methods and other diagnostic *in-vitro* procedures.

2. Introduction and Clinical Significance

Ebola virus disease (EVD) also known as Ebola haemorrhagic fever (EHF) is a severe, often fatal disease in humans and non-human primates (monkeys, gorillas and chimpanzees) which has appeared sporadically. The genus *Ebolavirus* is one of the three members of the *Filoviridae* family of RNA viruses. There are five identified species in the genus *Ebolavirus*: *Zaire ebolavirus* (EBOV), *Sudan ebolavirus* (SUDV), *Reston ebolavirus* (RESTV), *Bundibugyo ebolavirus* (BDBV) and *Tai Forest ebolavirus* (TAFV). Up to 90% of the outbreaks are caused by *Zaire ebolavirus*.

3. Test Principle

The NADAL® Ebola Test is a rapid, qualitative, membrane-based immunoassay for the detection of VP40 antigen of the Ebola virus in human serum or throat swabs. After applying the sample to the sample well, it reacts with anti-Ebola antibodies coated to particles (anti-Ebola antibody-particle complexes). The mixture migrates along the membrane by capillary action.

Upon reaching the test line region, antigens bound to the anti-Ebola antibody-particle complexes react with the capture reagent, which are anti-Ebola antibodies immobilised in the test line region of the membrane, and generate a coloured line.

The appearance of a coloured line in the test line region indicates a positive result (the presence of Ebola antigen), while its absence indicates a negative result.

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

4. Reagents and Materials Supplied

- 20 NADAL® Ebola test cassettes (containing particles coated with anti-Ebola antibodies, anti-Ebola antibodies and anti-mouse IgG immobilised on nitrocellulose membrane).
- 20 transfer pipettes
- 20 extraction tubes
- Provided additional material according to 93/42/EEC:
 - 20 sterile polyester-tipped swabs CE 0086
 - Puritan Medical Products Company LLC
 - 31 School Street
 - Guilford, Maine 04443-0149 USA (authorised EU representative EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)
- 1 extraction buffer Ebola (10 ml)
- 1 tube rack
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

- Timer
- Sample collection device for serum

6. Storage & Stability

Store the test unopened at 4-30°C and use it until the expiration date printed on the sealed foil pouch. The test cassette must remain in the sealed foil pouch until use. Do not use any component of the test kit beyond the labeled expiration date. Do not freeze the test kit.

Test cassettes are sensitive to light and humidity. Therefore, do not use test cassettes that have become wet or have damaged pouches.

After opening the sealed foil pouch, the test should be performed immediately or maximum within 1 hour.

After opening the buffer vial, the extraction buffer can be stored at 4-30°C and used safely for 3 months.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the test procedure prior to testing.
- Do not use the test after the expiration date indicated on the package.
- Do not use the test if the foil pouch is damaged.
- Do not reuse tests.
- Do not add samples to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Avoid cross-contamination of specimens by using a new extraction tube for each specimen obtained.
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Do not use swabs from damaged pouches.
- Humidity and temperature can adversely affect test results.
- Used testing materials should be decontaminated and discarded according to local regulations.

8. Specimen Collection and Preparation

Samples should be collected, handled and shipped following appropriate infection control precautions for Ebola, other hemorrhagic fever viruses or other infectious diseases.

Shipping can be performed according to the policies of the sender, customs regulations and the requirements of the

receiving laboratory. If samples are to be shipped, they should be packed in compliance with statutory regulations for transportation of etiologic agents.

Serum

Use only human serum collected and prepared according to the instructions of the manufacturer of the sampling device for sample collection.

Use only clear, non-hemolysed samples.

Serum can be stored at 2-8°C for up to 3 days. For long-term storage, samples should be kept below -20°C.

Bring samples to room temperature prior to testing. Frozen samples must be completely thawed and well mixed prior to testing.

Samples should not be frozen and thawed repeatedly.

Throat swabs

Use samples at room temperature (15-30°C) only.

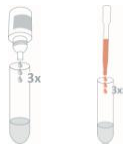
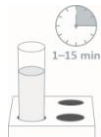


Use only fresh throat swabs. Do not store or freeze throat swabs.

9. Test Procedure



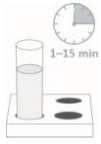


Bring test components and samples to room temperature (15-30°C) prior to testing.

- Remove the test cassette from the sealed foil pouch and use it as soon as possible. The test should be performed within 1 hour of opening the sealed foil pouch.
- Place the test cassette on a clean and level surface.
- Label the test cassette with the patient or control identification.
- Label the extraction tube with the patient or control identification and place it into the tube rack.

A. Serum

- Holding the extraction buffer vial vertically, add 3 drops (approx. 100 µl) of the extraction buffer to the extraction tube. Use only the buffer provided with the test kit. 
- Holding the provided transfer pipette vertically, transfer 3 drops (approx. 100 µl) of serum sample into the extraction tube and incubate the solution for 1 to 15 minutes. 
- Now the mixture is ready to be tested. Fill the provided transfer pipette with the mixture. Holding the pipette vertically over the sample well (S) of the test cassette, drop the whole mixture into the sample well. Wait until each drop is absorbed before adding the next one. Start the timer. 
- Read the test result after 10 minutes. Do not interpret the test result after more than 15 minutes. 

B. Throat swabs

- Hold the extraction buffer vial vertically and add 9 drops of the extraction buffer to the extraction tube. Use only the buffer provided with this test kit. 
- Insert the provided sterile swab into the patient's oral cavity. Very gently push the swab until resistance is met at the level of the pharynx.
- Gently rotate the swab a few times against the mucous membrane.
- Immediately insert the swab with collected throat swab sample into the extraction tube, compress the bottom of the tube and rotate the swab vigorously to mix the reagents for at least 1 minute. Press the swab against the inside of the tube and squeeze as much liquid as possible from the swab by rotating and pressing its fiber part against the wall of the tube. Discard the swab. 
- Let the mixture incubate for 1 to 15 minutes. 
- Mix the contents of the tube again by swirling it gently.
- Now the mixture is ready to be tested. Fill the provided transfer pipette with the mixture. Holding the provided pipette over the sample well (S) of the test cassette, squeeze 6 drops into the sample well (S). Wait until each drop is absorbed before adding the next one. Start the timer. 
- Read the test result after 10 minutes. Do not interpret the test result after more than 15 minutes. 

10. Result Interpretation

Positive:

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



Any visible coloured line, appearing in the test line region (T), should be interpreted as positive, even if the test line is lighter or darker than the line in the control line region (C).

Negative:

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



Invalid:

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



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

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

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette:

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

12. Limitations

- The NADAL® Ebola Test is designed for qualitative *in-vitro* detection of the VP40 antigen of the Ebola virus in human serum and throat swabs. Other body fluids and pooled samples may give inaccurate results and should not be used.
- The NADAL® Ebola Test should only be used with samples from patients with suspected Ebola infections (febrile diseases) as an aid to detect Ebola haemorrhagic fever. It should not be used as the sole criterion in diagnosing Ebola infections.
- The NADAL® Ebola Test detects the presence of Ebola virions at densities of $\geq 10^6$ PFU/ml in the sample. Therefore, it should not be used to exclude Ebola infections.
- Results should be interpreted by a physician only.
- Results should be used only in conjunction with clinical information/symptoms/methods and other *in-vitro* diagnostic procedures (e.g. PCR techniques).
- The intensity of the coloured line in the test line region does not correlate with the antigen titer in the sample.
- A negative result does not exclude the possibility of Ebola infection at any time.
- A positive result should be confirmed by using a different method and should be evaluated together with the overall clinical evaluation.
- False-positive or false-negative results may be produced by:
 - insufficient sample volume or incorrect procedural techniques
 - the use of inappropriate samples or materials (different buffer as the one provided with the test kit, other volumes of samples and buffer than those indicated)
 - disregard for the incubation time of at least 1 minute of sample and extraction buffer
 - disregard for the waiting time of 10 minutes after applying the mixture to the test cassette
- Low titers of Ebola may result in a faint line appearing in the test line region after prolonged time.
- The "Hook effect" in case of very high antigen levels in the sample can lead to false-negative results.
- Apart from EDTA, no substance has been demonstrated to trigger cross-reactions.

13. Performance Characteristics

The performance of the NADAL® Ebola Test has been compared with that of the PCR system RealStar® Ebola virus RT-PCR Kit 1.0 based on samples from African patients from Conakry in Guinea.

		NADAL® Ebola Test		
		+	--	Total
PCR	+	12	1	13
	--	2	103	105
	Total	14	104	118

Analytic sensitivity: \leq CT 23

Specificity: 98 %

14. References

1. Lucht A, Grunow R, Möller P, Feldmann H, Becker S: Development, characterization and use of monoclonal antibodies for the detection of Ebola virus. *J Virol Methods* 2003; 111:21-8
2. Grolla A, Lucht A, Dick D, Strong JE, Feldmann H: Laboratory diagnosis of Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Bull Soc Pathol Exot* 2005; 98:205-9
3. Becker S, Feldmann H, Will C, Slenczka W: Evidence of occurrence of filovirus antibodies in humans and imported monkeys: Do subclinical filovirus infections occur worldwide? *Med Microbiol Immunol* 1992; 181:43-55
4. World Health Organization. Outbreak(s) of Ebola haemorrhagic fever in the Republic of Congo, January-April 2003. *Wkly Epidemiol Rec* 2003; 78:285-9
5. Hartmann H, Lübbers B, Cararetto M, Bausch W, Klos A, Köhl J. Rapid quantification of C3a and C5a using a combination of chromatographic and immunoassay procedures. *J Immunol Methods* 1993; 166:35-44
6. Ksiazek TG, Rollin PE, Jahrling PB, Johnson E, Dalgard DW, Peters CJ: Enzyme immunosorbent assay for Ebola virus antigens in tissues of infected primates. *J Clin Microbiol* 1992; 30:947-50
7. National Committee for Clinical Standards Clinical Waste Management: Approved Guideline. NCCLS Document GP5-A. Villanova, PA: NCCLS 1993; 13:1-18, 29-42
8. Townner JS, Rollin PE, Bausch DG, Sanchez A, Crary SM, Vincent M, Lee WF, Spiropoulou CF, Ksiazek TG, Lukwya M, Kaducu F, Downing R, Nichol ST: Rapid diagnosis of ebola hemorrhagic fever by reverse transcription-PCR in an outbreak setting and assessment of patient viral load as a predictor of outcome. *J Virol* 2004; 78:4330-41

Rev. 0, 2015-05-26 OM/UJ

1. Domaine d'application

Le test NADAL® Ebola (sérum/prélèvements de gorge) est un immunodosage chromatographique rapide pour la détection qualitative des antigènes *Ebolavirus* dans le sérum humain et les prélèvements de gorge. Le test est destiné à l'aide à la détection de l'infection par le virus Ebola chez les patients fébriles. Le diagnostic final doit être établi en corrélation avec les données cliniques disponibles ainsi qu'avec divers procédés de diagnostic *in-vitro*.

2. Introduction et signification clinique

La fièvre Ebola (Ebola virus disease (EVD)), également connue sous le nom de fièvre hémorragique Ebola (EFH), est une maladie grave, souvent mortelle, apparaissant de manière sporadique chez les humains et les primates non-humains (singes, gorilles et chimpanzés). Le virus Ebola appartient au genre *Ebolavirus* de la famille des filovirus des virus ARN. Le genre *Ebolavirus* compte 5 cinq espèces : *ebolavirus Zaïre* (EBOV), *ebolavirus Soudan* (SUDV), *ebolavirus Reston* (RESTV), *ebolavirus Bundibugyo* (BDBV) et *ebolavirus Forêt de Taï* (TAFV). 90% des éruptions de la maladie sont causées par *ebolavirus Zaïre*.

3. Principe du test

Le test NADAL® Ebola est un immunodosage rapide qualitatif pour la détection des antigènes VP40 *Ebolavirus* dans le sérum et les prélèvements de gorge. Une fois le prélèvement déposé dans le puits de dépôt, il réagit aux anticorps anti-Ebola liés à des particules d'or (complexe anticorps anti-Ebola/particules). Le complexe migre le long la membrane par capillarité.

Dès que les antigènes liés au complexe anticorps anti-Ebola/particules atteignent la zone de test, ils réagissent aux réactifs de capture, les anticorps anti-Ebola immobilisés au niveau de la zone de test. Une ligne colorée apparaît.

L'apparition de la ligne de couleur au niveau de la zone de test indique un résultat positif (présence des antigènes Ebola). L'absence de cette ligne indique une absence des antigènes Ebola.

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

4. Matériel fourni

- 20 cassettes NADAL® Ebola (Anticorps anti-Ebola liées à des particules d'or, anticorps anti-Ebola et des IgG anti-anticorps de souris immobilisés sur une membrane en nitrocellulose).
 - 20 pipettes de transfert
 - 20 tubes d'extraction
 - Matériel fourni selon 93/42/EWG :
20 écouvillons stériles CE 0086 avec extrémité en polyester
- Puritan Medical Products Company LLC
 31 School Street
 Guilford, Maine 04443-0149 USA (Représentant
 UE autorisé EMERGO EUROPE, The Hague, The
 Netherlands)
- 1 solution d'extraction „Extraction buffer Ebola“ (10ml)
 - 1 support de tube
 - 1 notice d'utilisation

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Chronomètre
- Matériel supplémentaire pour le recueil des échantillons de sérum

6. Péréemption et conservation des réactifs

Les tests non-utilisés sont à conserver dans leur emballage d'origine entre 4 et 30°C jusqu'à la date de péréemption indiquée sur l'emballage. Conserver la cassette dans son emballage fermé jusqu'à son utilisation. Ne jamais utiliser des produits dont la date de péréemption est dépassée. Ne pas congeler le kit.

Les cassettes sont sensibles à la lumière et à l'humidité. Ne jamais utiliser de cassettes humides ou des cassettes dont l'emballage est endommagé.

Utiliser le test immédiatement ou au plus tard une heure après l'ouverture de son emballage.

Après ouverture du flacon de solution, la solution d'extraction („Extraction buffer Ebola“) peut être conservée à une température comprise entre 4 et 30°C pendant trois mois.

7. Précautions et mesures de sécurité

- Test réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Veiller à lire attentivement la notice d'utilisation avant de réaliser le test.
- Ne pas utiliser le test après la date de péréemption indiquée sur l'emballage.
- Ne pas utiliser le test si l'emballage est endommagé.
- Test à usage unique.
- Ne pas déposer de prélèvement sur la zone réactive (fenêtre de résultats).
- Ne pas toucher la zone réactive afin d'éviter toute contamination.
- Pour chaque prélèvement, utiliser un collecteur différent afin d'éviter tout risque de contaminations croisées.
- Ne pas interchanger ou mélanger le matériel de différents kits.
- Ne pas manger, boire ou fumer à proximité de la zone de manipulation des tests.
- Utiliser des vêtements de protection tels qu'une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et des lunettes de protection.
- Manipuler les échantillons en les considérant comme de potentiels réactifs infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les manipulations ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.
- Ce test contient des produits d'origine animale. La certification concernant l'origine et l'état sanitaire des animaux ne certifie pas l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Tous les prélèvements et matériaux utilisés pour ce test doivent être considérés comme des matières infectieuses. Il est recommandé d'appliquer les mesures de précaution nécessaires (ne pas avaler ou inhaler).
- Ne pas utiliser les écouvillons dont l'emballage est endommagé.
- L'humidité et les fortes températures peuvent altérer les résultats du test.

- Les composants du test doivent être éliminés selon les directives locales en vigueur.

8. Recueil, préparation et conservation des échantillons

Tous les échantillons doivent être éliminés, manipulés et transportés conformément à la loi sur la protection contre les infections tels que : Ebola, d'autres virus dus à des fièvres hémorragiques et des maladies infectieuses.

L'expédition se fait conformément aux directives de l'expéditeur, aux réglementations douanières et aux exigences du laboratoire destinataire. Dans le cas où les échantillons doivent être transportés, il est recommandé de les emballer selon les directives légales relatives au transport d'agents étiologiques.

Sérum

Utiliser exclusivement du sérum humain préparé selon les instructions du fabricant relatives au matériel de recueil des échantillons.

Utiliser un échantillon clair et non hémolysé.

Le sérum peut être conservé jusqu'à 3 jours à une température comprise entre 2 et 8°C. Dans le cas d'une conservation plus longue, conserver les échantillons à une température d'au moins -20°C

Amener tous les échantillons à température ambiante avant la réalisation du test. Décongeler tous les échantillons congelés avant la réalisation du test et bien mélanger.

Ne pas répéter les cycles de congélation-décongélation.

Prélèvements pharyngés

Utiliser les échantillons à température ambiante (15-30°C).

Utiliser des prélèvements pharyngés frais. Ne pas congeler ou conserver les prélèvements pharyngés.

9. Exécution du test

Amener tous les réactifs à température ambiante (15-30°C) avant de commencer le test.

- Sortir la cassette de son emballage fermé et utiliser la cassette aussi vite que possible. Il est recommandé d'utiliser le test dans l'heure qui suit l'ouverture de l'emballage.
- Déposer la cassette sur une surface plane et propre.
- Indiquer les identifiants du patient et du contrôle sur la cassette.
- Indiquer les identifiants du patient et du contrôle sur le tube d'extraction et déposer celui-ci sur le support.

A. Sérum

- Tenir le flacon de solution d'extraction („Extraction buffer Ebola“) à la verticale et déposer 3 gouttes (env. 100 µl) dans le tube extracteur. Utiliser **exclusivement** la solution d'extraction („Extraction buffer Ebola“) fournie avec le test.
- Tenir la pipette de transfert à la verticale et transférer 3 gouttes (env. 100 µl) du prélèvement de sérum dans le tube extracteur puis laisser incubé la solution pendant 1 à 15 minutes.



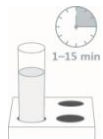
- Le mélange est réservé au test. Aspirer le mélange à l'aide de la pipette de transfert. Tenir la pipette de transfert à la verticale au dessus du puits de dépôt de la cassette puis déposer la totalité du mélange dans le puits de dépôt (S). Attendre que la cassette absorbe totalement une goutte pour déposer la suivante. Démarrer le chronomètre.



- Interpréter le test après 10 minutes. Ne plus interpréter les résultats après 15 minutes.

B. Prélèvements de gorge

- Tenir le flacon de la solution d'extraction („Extraction buffer Ebola“) à la verticale et déposer 9 gouttes de la solution d'extraction („Extraction buffer Ebola“) dans le tube extracteur. Utiliser **exclusivement** la solution d'extraction („Extraction buffer Ebola“) fournie avec le test.
- Insérer l'écouvillon stérile fourni avec ce kit dans la cavité buccale du patient. Insérer celui-ci doucement jusqu'à sentir une résistance au niveau de la gorge.
- Faire pivoter l'écouvillon stérile plusieurs fois contre la muqueuse.
- Insérer l'écouvillon imbibé du prélèvement de gorge dans le tube d'extraction puis effectuer une pression contre les parois du tube en le faisant pivoter afin de mélanger les réactifs pendant 1 minute. Effectuer une pression contre la paroi intérieure du tube afin d'en faire sortir une quantité suffisante de liquide. Éliminer l'écouvillon.
- Laisser incubé le mélange de 1 à 15 minutes.
- Mélanger de nouveau le contenu du tube en l'agitant légèrement.



- Le mélange est prêt à être analysé. Aspirer le mélange à l'aide de la pipette de transfert fournie. Tenir la pipette de transfert à la verticale au dessus du puits de dépôt (S) de la cassette puis déposer 6 gouttes du mélange dans le puits de dépôt (S). Attendre que la cassette absorbe totalement une goutte pour déposer la suivante. Démarrer le chronomètre.
- Interpréter le test après 10 minutes. Ne plus interpréter les résultats après 15 minutes.



10. Interprétation des résultats

Positif :

Deux lignes colorées apparaissent. Une ligne colorée apparaît au niveau de la

zone de contrôle (C) et une autre ligne colorée apparaît au niveau de la zone de test (T).

Toute ligne colorée apparaissant au niveau de la zone de test (T) doit être considérée comme positive même si sa couleur est plus claire ou plus foncée que la ligne présente au niveau de la zone de contrôle (C).

Négatif :

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

Non-valide :

Aucune ligne n'apparaît à hauteur de la zone de contrôle. Les tests sur lesquels aucune ligne de contrôle n'est apparue dans le temps d'évaluation fixée doivent être jetés.

Un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou des tests périmés sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle. Contrôler la procédure d'exécution du test et répéter le test avec une nouvelle cassette. Dans le cas où le problème persiste, ne plus utiliser le kit du test et contacter le distributeur.



- Un résultat positif devrait toujours être confirmé avec une autre méthode en prenant en compte toutes les données cliniques disponibles
- Les faux positifs et les faux négatifs peuvent apparaître suite à :
 - Volume d'échantillon insuffisant ou procédé incorrect.
 - Utilisation d'échantillons ou de matériaux inappropriés (autre solution que celle fournie dans le kit, quantité d'échantillon ou de solution non correcte).
 - Non respect du temps fixé pour l'incubation (au moins 1 minute).
 - Non respect du temps d'attente pour la lecture des résultats (10 minutes après le dépôt du mélange sur la cassette.)
- Si le temps d'attente pour la lecture des résultats est trop long, une faible concentration en Ebola peut générer une ligne de faible intensité au niveau de la zone de test.
- Une forte concentration en antigènes dans les échantillons peut entraîner un "effet hook" provoquant de faux négatifs.
- Excepté l'EDTA, aucune substance ne provoque de réactions croisées avec le test.

13. Performance du test

La performance du test NADAL®Ebola a été comparée à celle de la méthode PCR du kit RealStar® Ebolavirus Type RT-PCR 1.0 sur des échantillons de patients africains provenant de Conakry en Guinée.

		Test NADAL® Ebola		
		+	--	Total
PCR	+	12	1	13
	--	2	103	105
	Total	14	104	118

Sensibilité analytique : ≤CT 23

Spécificité : 98%

14. Bibliographie

1. Lucht A, Grunow R, Möller P, Feldmann H, Becker S: Development, characterization and use of monoclonal antibodies for the detection of Ebola virus. *J Virol Methods* 2003; 111:21-8
2. Grolla A, Lucht A, Dick D, Strong JE, Feldmann H: Laboratory diagnosis of Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Bull Soc Pathol Exot* 2005; 98:205-9
3. Becker S, Feldmann H, Will C, Slenczka W: Evidence of occurrence of filovirus antibodies in humans and imported monkeys: Do subclinical filovirus infections occur worldwide? *Med Microbiol Immunol* 1992; 181:43-55
4. World Health Organization. Outbreak(s) of Ebola haemorrhagic fever in the Republic of Congo, January-April 2003. *Wkly Epidemiol Rec* 2003; 78:285-9
5. Hartmann H, Lübbers B, Cararetto M, Bausch W, Klos A, Köhl J. Rapid quantification of C3a and C5a using a combination of chromatographic and immunoassay procedures. *J Immunol Methods* 1993; 166:35-44
6. Ksiazek TG, Rollin PE, Jahrling PB, Johnson E, Dalgard DW, Peters CJ: Enzyme immunoassay for Ebola virus antigens in tissues of infected primates. *J Clin Microbiol* 1992; 30:947-50
7. National Committee for Clinical Standards Clinical Waste Management: Approved Guideline. *NCCLS Document GPS-A. Villanova, PA: NCCLS* 1993; 13:1-18, 29-42
8. Townner JS, Rollin PE, Bausch DG, Sanchez A, Crary SM, Vincent M, Lee WF, Spiropoulou CF, Ksiazek TG, Lukwiyi M, Kaducu F, Downing R, Nichol ST: Rapid diagnosis of ebola hemorrhagic fever by reverse transcription-PCR in an outbreak setting and assessment of patient viral load as a predictor of outcome. *J Virol* 2004; 78:4330-41

Rev. 0, 2015-05-26 PF

11. Contrôle qualité

La cassette contient une procédure de contrôle interne.

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

12. Limites du test

- Le test NADAL®Ebola a été conçu pour la détection qualitative *in-vitro* des antigènes VP40 du virus Ebola dans le sérum humain et les prélèvements de gorge. Ne pas utiliser d'autres fluides corporels ou tout autre mélange d'échantillon, ceux-ci pouvant générer de faux résultats.
- Le test NADAL®Ebola est réservé aux patients chez qui est suspectée une infection par le virus Ebola (maladie fébrile). Le test est une aide à la détection de la fièvre hémorragique Ebola. Un diagnostic final à l'infection Ebola ne devrait jamais être conclu sur le seul critère qu'est ce test.
- Le test NADAL®Ebola détecte la présence des virions Ebola à une concentration de 10⁶ PFU/ml par échantillon. Ce test ne devrait donc jamais être la seule méthode de diagnostic de l'infection par le virus Ebola.
- Seul un médecin est en droit d'interpréter les résultats.
- Les résultats doivent toujours être confirmés par d'autres procédés de diagnostic *in-vitro* (ex : techniques PCR) et par des méthodes/symptômes/informations cliniques.
- Il n'existe aucun lien entre l'intensité de la couleur de la ligne de test et la concentration en antigènes dans les échantillons.
- Un résultat négatif n'exclut en aucun cas une possible infection à Ebola.

1. Uso previsto

El test NADAL® Ébola (suero/exudado faríngeo) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de antígenos de *Ebolavirus* en suero humano o muestras faríngeas. Está diseñado para ayudar a la detección de infecciones por Ébola bajo condiciones febriles y junto con otras informaciones/métodos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico *in-vitro*.

2. Introducción y significado clínico

La enfermedad por el virus del Ébola (EVE), también conocida como fiebre hemorrágica del Ébola (FHE), es una enfermedad grave, frecuentemente mortal que aparece, hasta ahora, esporádicamente en humanos y primates no humanos (monos, gorilas y chimpancés). El género *Ebolavirus* es uno de los tres miembros de la familia *Filoviridae* de los virus de RNA. Se identifican cinco diferentes especies del género *Ebolavirus*: *Zaire ebolavirus* (ZEBOV), *Sudan ebolavirus* (SUDV), *Reston ebolavirus* (RESTV), *Bundibugyo ebolavirus* (BDBV) y *Tai Forest ebolavirus* (TAFV). Hasta el 90% de los brotes están causados por el *Zaire ebolavirus*.

3. Principio del test

El test NADAL® Ébola es un inmunoensayo cualitativo rápido, basado en una membrana, para la detección de antígenos de VP40 del virus del Ébola en suero humano y exudados faríngeos. Una vez aplicada la muestra en el pocillo correspondiente, reacciona con los anticuerpos anti-Ébola, que están recubiertos con partículas (complejo de anticuerpos anti-Ébola y partículas). La mezcla se desplaza a lo largo de la membrana por acción capilar.

Una vez alcanzada la región de test, los antígenos, unidos a los complejos que forman los anticuerpos anti-Ébola con las partículas, reaccionan con el reactivo de captura, formado por anticuerpos anti-Ébola inmovilizados en la región de test de la membrana, y esto genera una línea coloreada.

La aparición de una línea coloreada en la región de test indica un resultado positivo (presencia de antígenos de Ébola), mientras que su ausencia indica un resultado negativo.

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

4. Reactivos y materiales provistos

- 20 casetes de test NADAL® Ébola (que contienen partículas recubiertas con anticuerpos anti-Ébola, así como anticuerpos anti-Ébola e IgG anti-ratón inmovilizados en la membrana de nitrocelulosa).
- 20 pipetas de transferencia
- 20 tubos de extracción
- Material provisto de acuerdo a 93/42/EWC:
20 hisopos estériles con punta de poliéster CE 0086



Puritan Medical Products Company LLC
31 School Street
Guilford, Maine 04443-0149 EE.UU.
(representante EU autorizado EMERGO EUROPE,
La Haya, Holanda)

- 1 búfer de extracción "Extraction buffer Ebola" (10 ml)
- 1 gradilla para tubos

- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Cronómetro
- Dispositivo para la recolección de muestras de suero

6. Almacenamiento y conservación

Almacene las pruebas cerradas a 4-30°C y utilícelas antes de la fecha de caducidad indicada en el envase sellado. Mantenga el dispositivo en dicho envase sellado hasta su uso. No utilice los componentes del kit después de la fecha de caducidad indicada. No congele el kit.

Los casetes de test son sensibles a la luz y a la humedad, por lo que no debe utilizar casetes que presenten humedad o daños en el envase.

Una vez abierto el envase, realice la prueba inmediatamente o, como máximo, en el intervalo de una hora.

Una vez abierto el vial del búfer de extracción "Extraction buffer Ebola", éste se puede almacenar a 4-30°C, manteniéndose utilizable hasta 3 meses.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todas las instrucciones antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No debe utilizar el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada la muestra al área de reacción (región de resultados)
- Evite tocar el área de reacción, a fin de evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Use ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y seguir las precauciones habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- No utilice los hisopos si los envases están dañados.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.

8. Recolección de muestras y preparación

Las muestras se deben recolectar, siguiendo las precauciones de control de infecciones para Ébola, otros virus de fiebre hemorrágica u otras enfermedades infecciosas.

El transporte se puede realizar según las directrices del remitente, las regulaciones aduaneras y los requerimientos del laboratorio receptor. Si las muestras se van a transportar, se deben empaquetar de acuerdo con las regulaciones estatutarias para el transporte de agentes etiológicos.

Suero

Utilice solo suero humano recolectado y preparado de acuerdo a las instrucciones del fabricante del dispositivo para la recogida de muestras.

Utilice solo muestras claras, no hemolizadas.

El suero se puede almacenar a 2-8°C hasta 3 días. Si desea almacenarlas durante más tiempo, debe congelarlas por debajo de -20°C.

Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Si se han congelado las muestras, debe descongelarlas y mezclarlas bien antes de realizar la prueba.

Evite los ciclos repetidos de congelado y descongelado.

Exudados faríngeos.

Utilice solo muestras a temperatura ambiente (15-30°C).

Utilice solo exudados faríngeos. No almacene ni congele las muestras faríngeas.

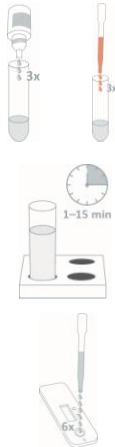
9. Procedimiento del test

Lleve las muestras y los casetes de test a temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba.

- Retire el casete de test de su envase y utilícelo lo más pronto posible. El test se debe realizar en el intervalo de una hora desde la apertura de la bolsa sellada.
- Coloque el casete de test sobre una superficie limpia y plana.
- Etiquete el casete de test con la identificación del paciente o de control.
- Etiquete el tubo de extracción con la identificación del paciente o de control y colóquelo en el portatubos.

A. Suero

1. Sujete verticalmente el tubo con el bûfer de extracción "Extraction buffer Ebola", añada 3 gotas (aprox. 100 µl) del bûfer en el tubo de extracción. Utilice solo el bûfer „Extraction buffer Ebola“ suministrado con el kit de test.
2. Sujetando verticalmente la pipeta de transferencia suministrada, transfiera 3 gotas (aprox. 100 µl) de muestra de suero en el tubo de extracción e incuba la solución de 1 a 15 minutos.
3. De este modo, la mezcla queda lista para la prueba. Llene la pipeta proporcionada con dicha mezcla. Sujétela verticalmente sobre el pocillo de la muestra (S) del casete de test y deposite toda la mezcla en dicho pocillo. Espere a que cada gota



se haya absorbido antes de añadir la siguiente. Active el cronómetro.

4. Lea los resultados del test a los 10 minutos.

No interprete los resultados después de 15 minutos.



B. Muestras faríngeas

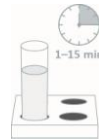
1. Sostenga verticalmente el vial del bûfer "Extraction buffer Ebola" y añada 9 gotas del mismo al tubo de extracción. Utilice solo el bûfer „Extraction buffer Ebola“ proporcionado con el kit de test.
2. Inserte el hisopo estéril proporcionado en la cavidad oral del paciente. Presione el hisopo suficientemente hasta que sienta resistencia al nivel de la faringe.
3. Rote el hisopo unas cuantas veces contra la membrana mucosa.



4. Inserte inmediatamente el hisopo con la muestra faríngea recolectada en el tubo de extracción, presiónelo contra el fondo del tubo y retuérzalo bien para mezclar los reactivos durante al menos 1 minuto. Presione ahora el hisopo contra el interior del tubo para escurrir todo el líquido posible retorciendo y presionando sus fibras contra la pared del mismo. A continuación, deseche el hisopo.



5. Incube la muestra de 1 a 15 minutos.
6. Mezcle los contenidos del tubo otra vez agitando suavemente.
7. Ahora la mezcla está lista para su uso. Llene la pipeta suministrada con la mezcla y sujétela sobre el pocillo de muestra (S) del casete. Deposite 6 gotas en dicho pocillo, esperando a que se absorba cada gota antes de añadir la siguiente. Active, a continuación, el cronómetro.



8. Lea los resultados del test a los 10 minutos.

No interprete los resultados después de 15 minutos.



10. Interpretación del resultado

Positivo:

Aparecen dos líneas coloreadas: una en el área de control (C) y la otra en el área de test (T).

Cualquier línea visible que aparezca en la región de test (T) se debe interpretar como resultado positivo, independientemente de que la línea sea más clara o más oscura que la línea del área de control (C).



Negativo:

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



No válido:

No aparece la línea de control. Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y deben descartarse.



Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control, son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento: se trata de

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

12. Limitaciones

- El test NADAL® Ébola está diseñado para la detección cualitativa mediante diagnósticos *in-vitro* del antígeno VP40 del virus del Ébola en suero humano y muestras faríngeas. No se deben utilizar otros fluidos corporales y muestras combinadas, ya que pueden dar resultados imprecisos.
- El test NADAL® Ébola solo se debe utilizar con muestras de pacientes con sospecha de infección por Ébola (enfermedades febriles), como ayuda para la detección de la fiebre hemorrágica del Ébola. No se debe utilizar como único criterio en el diagnóstico de dichas infecciones.
- El test NADAL® Ébola detecta la presencia del virus del Ébola a concentraciones de $\geq 10^6$ PFU/ml en la muestra. Por esta razón, no se suele utilizar para descartar infecciones por Ébola.
- Solo un médico debe interpretar los resultados obtenidos.
- Los resultados solo se deben interpretar en conjunto con la información, síntomas, métodos clínicos y otros procedimientos de diagnóstico *in-vitro* (p.ej. técnicas PCR).
- La intensidad de la línea coloreada de la región de test no se corresponde con la concentración de antígenos en la muestra.
- Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por Ébola en cualquier momento.
- Un resultado positivo se debe confirmar utilizando un método diferente y se debería evaluar junto con la evaluación clínica general.
- Los resultados falsos positivos o falsos negativos pueden estar producidos por:
 - insuficiente volumen de muestra o procedimiento incorrecto.

- utilización de muestras o materiales inapropiados (búfer distinto al suministrado con el kit de test, volúmenes de muestras y búfer diferentes de los indicados)
- incumplimiento del tiempo de incubación de la muestra y búfer de extracción de al menos 1 minuto
- incumplimiento del tiempo de espera de 10 minutos tras aplicar la mezcla al casete de test
- Los títulos bajos de Ébola, tras un tiempo prolongado, pueden dar lugar a una línea débil en la región de test,.
- El "efecto Hook" puede producir falsos resultados negativos en caso de niveles elevados de antígenos en la muestra.
- Además de EDTA, no se ha demostrado que se produzcan reacciones cruzadas con otras sustancias.

13. Características del rendimiento

Se ha comparado el test NADAL® Ébola con el del PCR system RealStar® Ebola virus RT-PCR Kit 1.0, que se basa en muestras de pacientes africanos de Conakry, en Guinea.

		Test NADAL® Ébola		
		+	--	Total
PCR	+	12	1	13
	--	2	103	105
	Total	14	104	118

Sensibilidad analítica: \leq CT 23

Especificidad: 98 %

14. Referencias

1. Lucht A, Grunow R, Möller P, Feldmann H, Becker S: Development, characterization and use of monoclonal antibodies for the detection of Ebola virus. *J Virol Methods* 2003; 111:21-8
2. Grolla A, Lucht A, Dick D, Strong JE, Feldmann H: Laboratory diagnosis of Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Bull Soc Pathol Exot* 2005; 98:205-9
3. Becker S, Feldmann H, Will C, Slenczka W: Evidence of occurrence of filovirus antibodies in humans and imported monkeys: Do subclinical filovirus infections occur worldwide? *Med Microbiol Immunol* 1992; 181:43-55
4. World Health Organization. Outbreak(s) of Ebola haemorrhagic fever in the Republic of Congo, January-April 2003. *Wkly Epidemiol Rec* 2003; 78:285-9
5. Hartmann H Lübbers B, Cararetto M, Bautsch W, Klos A, Köhl J. Rapid quantification of C3a and C5a using a combination of chromatographic and immunoassay procedures. *J Immunol Methods* 1993; 166:35-44
6. Ksiazek TG, Rollin PE, Jahrling PB, Johnson E, Dalgard DW, Peters CJ: Enzyme immunosorbent assay for Ebola virus antigens in tissues of infected primates. *J Clin Microbiol* 1992; 30:947-50
7. National Committee for Clinical Standards Clinical Waste Management: Approved Guideline. NCCLS Document GP5-A. Villanova, PA: NCCLS 1993; 13:1-18, 29-42
8. Townner JS, Rollin PE, Bausch DG, Sanchez A, Crary SM, Vincent M, Lee WF, Spiropoulou CF, Ksiazek TG, Lukwya M, Kaducu F, Downing R, Nichol ST: Rapid diagnosis of ebola hemorrhagic fever by reverse transcription-PCR in an outbreak setting and assessment of patient viral load as a predictor of outcome. *J Virol* 2004; 78:4330-41

Rev. 0, 2015-05-26 MP

1. Scopo del test

Il test NADAL® Ebola (siero/tampone faringeo) è un immunodosaggio cromatografico rapido per l'individuazione qualitativa degli antigeni dell'*Ebolavirus* in campioni di siero o tamponi faringei. Il test è stato concepito come supporto per l'individuazione dell'infezione Ebola in condizioni febbrili, in congiunzione con informazioni/metodi clinici ed altre procedure di diagnostica *in-vitro*.

2. Introduzione e Significato Clinico

La malattia da virus Ebola (EVD) precedentemente conosciuta come febbre emorragica Ebola (EHF) è una grave malattia degli esseri umani e altri primati (scimmie, gorilla e scimpanzé) spesso fatale, comparsa sporadicamente. Il gene del virus Ebola è uno dei tre membri della famiglia dei *Filoviridae* virus RNA. Ci sono cinque virus classificati nel genere *Ebolavirus*: *Zaire ebolavirus* (EBOV), *Sudan ebolavirus* (SUDV), *Reston ebolavirus* (RESTV), *Bundibugyo ebolavirus* (BDBV) e *Tai Forest ebolavirus* (TAFV). Il 90% dei focolai è causato dallo *Zaire Ebolavirus*.

3. Principio del Test

Il test NADAL® Ebola è un immunodosaggio qualitativo rapido su membrana per la rilevazione dell'antigene VP40 del virus Ebola in campioni di siero umano oppure in tamponi faringei. Una volta applicato al pozzetto di raccolta, il campione reagisce con gli anticorpi anti-Ebola legati a particelle (complessi anticorpo anti-Ebola-particella). Il composto migra lungo la membrana per azione capillare.

Appena raggiunta la regione della linea del test, gli antigeni legati ai complessi anticorpo anti-Ebola-particella reagiscono con il reagente di cattura, ovvero anticorpi anti-Ebola immobilizzati nella regione della linea del test sulla membrana generando così una linea colorata.

La comparsa della linea colorata nella regione della linea del test indica un risultato positivo (presenza dell'antigene dell'Ebola), mentre la sua assenza indica un risultato negativo.

La presenza di una linea colorata nella regione della linea di controllo funge da controllo procedurale interno indicando che è stato utilizzato il corretto volume di campione e che la migrazione sulla membrana è avvenuta correttamente.

4. Reagenti e Materiali Forniti

- 20 test a cassetta NADAL® Ebola (contenenti particelle rivestite con anticorpi anti-Ebola ed anticorpi anti-IgG di topo immobilizzati sulla membrana di nitrocellulosa).
- 20 pipette
- 20 tubi di estrazione
- Materiali forniti secondo la regolamentazione 93/42/EEC:
 - 20 tamponi in poliestere CE 0086



Puritan Medical Products Company LLC
31 School Street

Guilford, Maine 04443-0149 USA (authorised EU representative EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)

- 1 soluzione di estrazione "Extraction buffer Ebola" (10 ml)
- 1 supporto per le provette
- 1 istruzioni per l'uso

5. Altri materiali richiesti

- Timer
- Strumenti per la raccolta del campione di siero

6. Conservazione e Stabilità

Conservare il test sigillato a 4-30°C ed utilizzarlo fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. I test vanno conservati nella loro confezione fino all'utilizzo. Non utilizzare i componenti del test oltre la data di scadenza indicata. Non congelare i test.

I test a cassetta sono sensibili a luce e umidità. Pertanto, non utilizzare test baganti o la cui confezione dovesse risultare danneggiata.

Una volta aperta la confezione, il test andrebbe eseguito immediatamente oppure dopo un massimo di 1 ora.

Una volta aperta la fiala di soluzione, la soluzione di estrazione "Extraction buffer Ebola" può essere conservata a 4-30°C e usata per 3 mesi.

7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Leggere attentamente la procedura del test prima di eseguirlo.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Non utilizzare il test se la confezione dovesse risultare danneggiata.
- Non riutilizzare i test.
- Non aggiungere i campioni all'area di risultato (result area).
- Non toccare la zona di reazione (result area) al fine di evitare il verificarsi di episodi di contaminazione.
- Evitare il rischio di contaminazione incrociata dei campioni utilizzando sempre una nuova provetta per ogni campione.
- Non sostituire o mescolare i componenti provenienti da kit differenti.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le normali precauzioni contro rischi microbiologici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Il kit fornito contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o condizione sanitaria degli animali non esclude del tutto l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda, pertanto, che questi prodotti vengano trattati come potenzialmente infettivi ed utilizzati nel rispetto delle normali pratiche di sicurezza (ad esempio, non ingerire o inalare).
- Non utilizzare tamponi da confezioni danneggiate
- Umidità o temperature elevate possono influenzare in maniera negativa i risultati del test.
- I materiali utilizzati nello svolgimento del test vanno decontaminati e smaltiti nel rispetto delle regolamentazioni locali.

8. Preparazione e Raccolta del Campione

I campioni vanno raccolti, maneggiati e spediti in rispetto delle appropriate procedure di controllo applicabili in caso di infezioni da Ebola, altri virus responsabili della febbre emorragica o altre malattie infettive.

La spedizione può essere eseguita in accordo con le norme stabilite dal mittente, le regolamentazioni doganali vigenti e le necessità del laboratorio ricevente. Nel caso in cui si intenda spedire i campioni, questi andrebbero imballati seguendo le regolamentazioni legali in materia di trasporto di agenti eziologici.

Siero

Utilizzare esclusivamente siero umano e prepararlo in accordo con le istruzioni fornite dal produttore del positivo per la raccolta del campione.

Utilizzare solo campioni chiari, non emolizzati.

Campioni di siero e plasma possono essere conservati a 2-8°C fino a 3 giorni. Per conservazioni prolungate, i campioni vanno conservati a -20°C.

Portare i campioni a temperatura ambiente prima di eseguire il test. I campioni congelati vanno fatti scongelare completamente e mescolati adeguatamente prima di eseguire il test.

Evitare episodi ripetuti di congelamento e scongelamento dei campioni.

Tamponi faringei

Utilizzare solo campioni a temperatura ambiente (15-30°C).

Utilizzare solo tamponi faringei freschi. Non conservare oppure congelare i tamponi faringei.

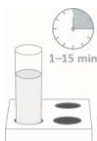
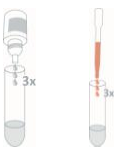
9. Procedura del Test

Portare i componenti del test ed i campioni a temperatura ambiente (15-30°C) prima di eseguire il test.

- Rimuovere il test a cassetta dalla confezione ed utilizzare il test appena possibile. Il test andrebbe eseguito entro un'ora dall'apertura della confezione.
- Posizionare il test a cassetta su una superficie piana e pulita.
- Etichettare i test a cassetta con l'identificativo del paziente o controllo.
- Etichettare la provetta con l'identificativo del paziente o controllo e posizionarla sull'apposito supporto.

A. Siero

1. Mantenendo in posizione verticale la fila contenente la soluzione di estrazione "Extraction buffer Ebola", aggiungere 3 gocce (circa 100 µl) di soluzione di estrazione alla provetta di estrazione. Utilizzare solo la soluzione „Extraction buffer Ebola“ fornita con questo test.
2. Mantenendo la pipetta fornita in posizione verticale, aggiungere 3 gocce (circa 100 µl) del campione di siero nel tubo di estrazione e incubare la soluzione tra 1 e 15 minuti.
3. La soluzione è ora pronta per l'utilizzo. Riempire la pipetta fornita, con il



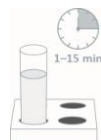
composto. Mantenendo la pipetta verticalmente, in corrispondenza del pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta, versare l'inetro composto nel pozzetto di raccolta del campione. Aspettare fin quando la prima goccia è assorbita prima di aggiungere la prossima. Avviare il timer.

4. Leggere il risultato del test entro 10 minuti.

Non interpretare i risultati dopo più di 15 minuti.

B. Tamponi faringei

1. Mantenendo in posizione verticale la fila contenente la soluzione di estrazione "Extraction buffer Ebola", aggiungere 9 gocce di soluzione di estrazione nella provetta di estrazione. Utilizzare solo la soluzione „Extraction buffer Ebola“ fornita con questo test.
2. Inserire il tampone fornito, nel cavo orale del paziente. Spingere molto delicatamente il tampone fino ad incontrare una certa resistenza a livello della faringe.
3. Ruotare delicatamente il tampone più di una volta, contro la membrana mucosa.
4. Inserire immediatamente il tampone con il campione raccolto, nella provetta di estrazione. Premere fino a che il tampone arrivi a toccare il fondo della provetta di estrazione e ruotare energicamente il tampone in modo da mescolare i reagenti per almeno 1 minuto. Ruotare e premendo il tampone contro le pareti interne della provetta, estrarre quanto più liquido possibile. Smaltire il tampone.
5. Lasciare agire il composto per 1-15 minuti.
6. Mescolare nuovamente il contenuto della provetta, agitandola delicatamente.
7. La soluzione è ora pronta per l'utilizzo. Riempire con il composto la pipetta fornita. Mantenendo la pipetta fornita al di sopra del pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta, versare 6 gocce nel pozzetto di raccolta (S). Aspettare fin quando la prima goccia è assorbita prima di aggiungere la prossima. Avviare il timer.
8. Leggere il risultato del test entro 10 minuti. Non interpretare i risultati dopo più di 15 minuti.



10. Interpretazione dei risultati

Positivo:

Compaiono due linee colorate distinte. Una linea colorata nella regione della

linea di controllo (C) e una linea nella regione della linea del test (T).

Qualsiasi linea colorata visibile nella regione della linea del test (T) va interpretata come indicativa di un risultato positivo, anche se la linea del test è più chiara o più scura della linea visibile nell'area di controllo (C).



Negativo:

Si sviluppa una linea colorata nella regione della linea di controllo (C). Non compare alcuna linea nella regione della linea del test (T).



Non valido:

La linea di controllo non compare. I risultati di qualsiasi test che non abbia prodotto alcuna linea di controllo entro i tempi di lettura indicati, non vanno presi in considerazione.



Un volume insufficiente di campione, procedure operative scorrette o test scaduti sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo. In tal caso si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a cassetta. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.

11. Controllo Qualità

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a cassetta: La linea colorata che compare in corrispondenza della regione della linea di controllo (C) è da considerarsi un controllo procedurale interno. Ciò conferma che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione, che la migrazione lungo la membrana è avvenuta in maniera corretta e che sono state applicate le giuste tecniche procedurali.

12. Limiti del Test

- Il test NADAL® Ebola è concepito per l'individuazione qualitativa *in-vitro* dell'antigene VP40 del virus Ebola in campioni di siero umano e tamponi faringei. L'utilizzo di altri fluidi corporei e campioni diluiti, potrebbe portare a risultati inaccurati ed è, pertanto, sconsigliato.
- Il test NADAL® Ebola va utilizzato esclusivamente su campioni prelevati da pazienti con infezioni sospette da virus Ebola (malattie febbrili), come supporto nell'individuazione della febbre emorragica Ebola. Il test non va utilizzato come unico criterio per la diagnosi di infezioni Ebola.
- Il test NADAL® Ebola rileva la presenza dei virioni dell'Ebola con densità $\geq 10^6$ PFU/ml nel campione. Pertanto, non va utilizzato come criterio per escludere le infezioni da Ebola.
- I risultati ottenuti andrebbero interpretati esclusivamente da un medico.
- I risultati andrebbero utilizzati solo in congiunzione con informazioni/sintomi/metodi clinici ed altre procedure di diagnostica *in-vitro* (ad esempio tecniche PCR).
- L'intensità di colore della linea del test non è in alcun modo correlata alla quantità di antigeni presenti nel campione.

- Un risultato negativo non preclude la possibilità dell'insorgere dell'Ebola.
- Un risultato positivo andrebbe confermato attraverso l'utilizzo di un metodo di analisi alternativo e dovrebbe essere interpretato insieme alla valutazione clinica complessiva.
- Risultati falsi-positivi oppure falsi-negativi possono essere causati da:
 - utilizzo di un volume insufficiente di campione o impiego di tecniche procedurali scorrette
 - utilizzo di campioni o materiali inadatti (soluzioni differenti da quelle fornite, altri volumi di campioni e tamponi diversi da quelli forniti)
 - inaccuratezza nel rispetto dei tempi di incubazione del campione e della soluzione di estrazione di almeno 1 minuto
 - inaccuratezza nel rispetto dei tempi di attesa (10 minuti) dopo l'applicazione della soluzione nel test a cassetta.
- bassi livelli di Ebola potrebbero risultare nella comparsa di una linea del test molto sbiadita dopo tempi prolungati.
- l'"Effetto Hook" in caso di una concentrazione dei livelli di antigeni molto alta nel campione, potrebbe portare a risultati falsi-negativi.
- eccetto l'EDTA, non sono state individuate altre sostanze responsabili di reattività incrociata.

13. Caratteristiche Tecniche

La performance del test NADAL® Ebola è stata comparata con quella del sistema PCR RealStar® virus Ebola RT-PCR Kit 1.0 basato su campioni prelevati da pazienti africani di Conakry in Guinea.

		test NADAL® Ebola		
		+	--	Totale
PCR	+	12	1	13
	--	2	103	105
	Totale	14	104	118

Sensibilità analitica: \leq CT 23

Specificità: 98 %

14. Bibliografia

1. Lucht A, Grunow R, Möller P, Feldmann H, Becker S: Development, characterization and use of monoclonal antibodies for the detection of Ebola virus. *J Virol Methods* 2003; 111:21-8
2. Grolla A, Lucht A, Dick D, Strong JE, Feldmann H: Laboratory diagnosis of Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Bull Soc Pathol Exot* 2005; 98:205-9
3. Becker S, Feldmann H, Will C, Slenczka W: Evidence of occurrence of filovirus antibodies in humans and imported monkeys: Do subclinical filovirus infections occur worldwide? *Med Microbiol Immunol* 1992; 181:43-55
4. World Health Organization. Outbreak(s) of Ebola haemorrhagic fever in the Republic of Congo, January-April 2003. *Wkly Epidemiol Rec* 2003; 78:285-9
5. Hartmann H, Lübbers B, Cararetto M, Bautsch W, Klos A, Köhl J. Rapid quantification of C3a and C5a using a combination of chromatographic and immunoassay procedures. *J Immunol Methods* 1993; 166:35-44
6. Kisazek TG, Rollin PE, Jahrling PB, Johnson E, Dalgaard DW, Peters CJ: Enzyme immunoassay for Ebola virus antigens in tissues of infected primates. *J Clin Microbiol* 1992; 30:947-50
7. National Committee for Clinical Standards Clinical Waste Management: Approved Guideline. NCCLS Document GP5-A. Villanova, PA: NCCLS 1993; 13:1-18, 29-42
8. Townser JS, Rollin PE, Bausch DG, Sanchez A, Crary SM, Vincent M, Lee WF, Spiropoulou CF, Kisazek TG, Lukwija M, Kaducu F, Downing R, Nichol ST: Rapid diagnosis of ebola hemorrhagic fever by reverse transcription-PCR in an outbreak setting and assessment of patient viral load as a predictor of outcome. *J Virol* 2004; 78:4330-41

Rev. 0, 2015-05-26 BN

1. Zastosowanie

Test NADAL® Ebola (surowica/wymaz z gardła) jest szybkim immunochromatograficznym testem do jakościowego oznaczenia antygenów wirusa *Ebola* w ludzkiej surowicy i wymazów z gardła. Test używany jest jako środek pomocniczy do rozpoznawania infekcji Ebola przy stanach gorączkowych w połączeniu z klinicznymi metodami/informacjami i innymi diagnostycznymi procesami *in-vitro*.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Podczas gorączki Ebola (Ebola virus disease (EVD)), znana również jako gorączka krwotoczna Ebola (EHF), mówimy o ciężkiej, często śmiertelnej i dotychczas sporadycznie występującej chorobie u ludzi oraz nieludzkich form nadrzędnych (małpy, goryle i szympansy). Gatunek *Ebolavirus* jest jedną z trzech członków rodziny *Filoviridae* wirusów RNA. Przy gatunku *Ebolavirus* rozróżniamy 5 podgatunków: *Zaire ebolavirus* (EBOV), *Sudan ebolavirus* (SUDV), *Reston ebolavirus* (RESTV), *Bundibugyo ebolavirus* (BDBV) i *Tai Forest ebolavirus* (TAFV). Prawie 90% wszystkich epidemii wywołane jest przez *Zaire ebolavirus*.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Ebola jest szybkim jakościowym membranowym testem immunologicznym do oznaczania antygenu VP40 wirusa Ebola w próbkach ludzkiej surowicy i wymazu z gardła. W momencie, gdy próbka została dodana do zagłębienia próbki, reaguje ona z przeciwciałami przeciw Ebola, które wstępnie powleczone są na cząsteczkach (kompleksy cząsteczek przeciwciał przeciw Ebola). Mieszanina wędruje przy pomocy sił kapilarnych wzdłuż membrany.

W momencie, gdy antygeny zwiążą się z kompleksem cząsteczek przeciwciał przeciw Ebola i osiągną obszar linii testowych, reagują z odczynnikiem Capture, unieruchomionymi na membranie w obszarze linii testowej przeciwciałami przeciw Ebola i wytwarzają kolorową linię.

Pojawienie się kolorowej linii w obszarze linii testowej wskazuje na pozytywny wynik (obecność antygenu Ebola), podczas gdy niepojawienie się kolorowej linii wskazuje na wynik negatywny.

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

4. Materiały zawarte w zestawie

- 20 testów kasetowych NADAL® Ebola (zawierają cząsteczki, które powleczone są przeciwciałami przeciw Ebola, jak również unieruchomione na membranie nitrocelulozowej przeciwciała przeciw Ebola i anty-mysie IgG).
- 20 pipet transferowych
- 20 próbek ekstrakcyjnych
- Materiał dodatkowy, dostarczony zgodnie z dyrektywą 93/42/EWG:
20 sterylnych wacików do wymazu CE 0086



Puritan Medical Products Company LLC
31 School Street
Guilford, Maine 04443-0149 USA (upoważniony reprezentant w UE EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)

- 1 bufor ekstrakcyjny "Extraction buffer Ebola" (10 ml)
- 1 stojak na próbki
- 1 instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Stoper
- Materiały do pobrania próbki tylko dla surowicy

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Test może być przechowywany w zamkniętym opakowaniu foliowym w temperaturze 4-30°C, do podanej daty użyteczności. Kasetka testowa musi zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym aż do momentu jej użycia. Nigdy nie używać elementów po upływie daty użyteczności na etykiecie dacie użyteczności. Nie zamrażać zestawów testowych.

Kasetki testowe są czułe na światło i wilgoć. Dlatego nigdy nie należy stosować mokrych testów kasetowych lub testów, których opakowanie foliowe jest uszkodzone.

Test powinien być przeprowadzony niezwłocznie lub maksymalnie godzinę od momentu otwarcia opakowania foliowego.

Po otwarciu buteleczki z buforem, bufor ekstrakcyjny "Extraction buffer Ebola" może być przechowywany przez 3 miesiące w temperaturze 4-30°C.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone.
- Nie używać ponownie tych samych testów.
- Nie należy pipetować próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego.
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego należy używać każdorazowo nowej próbki dla każdej próbki.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Nie jeść, nie pić lub nie palić papierosów w obszarze, w którym pracuje się z próbkami oraz zestawami testowymi.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały odczynnik zakaźny. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Test ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantują braku patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności (np. unikać połknięcia lub wdychania).
- Nie używać wacików, których opakowanie jest uszkodzone.

- Wilgoć oraz wysokie temperatury mogą mieć wpływ na wyniki testu.
- Zużyte materiały testowe powinny być zutilizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Wszystkie próbki należy pobierać, obsługiwać i wysyłać, zgodnie z odpowiednimi środkami ostrożności dotyczącymi Eboli, innych wirusów wywołujących gorączki krwotoczne oraz choroby infekcyjne.

Wysłka może nastąpić zgodnie z dyrektywami nadawcy, przepisów celnych ewentualnie innych wymagań odbierającego laboratorium. Jeżeli próbki mają być transportowane, to opakowanie musi być zgodne z prawnymi przepisami dotyczącymi etiologicznych środków zakaźnych.

Surowica

Stosować wyłącznie ludzką surowicę, która została przygotowana zgodnie z zaleceniami producenta materiałów do pobierania próbki.

Stosować jedynie czyste, wolne od hemolizy próbki.

Surowica może być przechowywana do 3 dni w temperaturze 2-8°C. W celu dłuższego przechowywania, próbki mogą być przechowywane w temperaturze -20°C.

Wszystkie próbki przywrócić przed przeprowadzeniem testu do temperatury pokojowej. Zamrożone próbki całkowicie rozmrozić i dobrze wymieszać.

Nie zamrażać i rozmrażać próbek ponownie.

Wymazy z gardła

Próbki stosować jedynie w temperaturze pokojowej.

Stosować jedynie świeżo pobrane wymazy z gardła. Nie zamrażać i przechowywać wymazów z gardła.

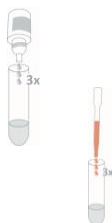
9. Przeprowadzanie testu

Przed przeprowadzeniem testu, wszystkie komponenty testu oraz próbki doprowadzić do temperatury pokojowej (15-30°C).

- Wyciągnąć kasetę testową z zamkniętego opakowania foliowego i przeprowadzić test tak szybko, jak jest to tylko możliwe. Test powinien zostać przeprowadzony w ciągu godziny po otwarciu zamkniętego opakowania foliowego.
- Kasetę testową położyć na czystą i równą powierzchnię.
- Oznaczyć kasetę testową z danymi pacjenta oraz identyfikacją kontrolną.
- Oznaczyć probówkę ekstrakcyjną z danymi pacjenta oraz identyfikacją kontrolną, a następnie umieścić ją w stojaku na probówce.

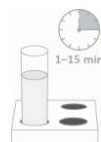
A. Surowica

1. Trzymać buteleczkę z buforem ekstrakcyjnym "Extraction buffer Ebola" pionowo i dodać 3 krople (ok. 100 µl) bufora ekstrakcyjnego "Extraction buffer Ebola" do probówki ekstrakcyjnej. Używać wyłącznie bufora ekstrakcyjnego, dostarczonego z tym zestawem testowym.
2. Dołączona pipetę trzymać pionowo i dodać 3 krople (ok. 100 µl) próbki



surowicy do probówki ekstrakcyjnej, następnie inkubować roztwór od 1 do 15 minut.

3. Mieszanina jest teraz gotowa do badania. Nabrać mieszaninę dołączoną pipetą. Trzymać pipetę transportową pionowo nad zagłębieniem próbki (S) kasyety testowej i nakropić całą mieszaninę do zagłębienia próbki (S). Czekać po każdej kropli, aż ta w zupełności się wchłonie, przed dodaniem kolejnej kropli. Włączyć stoper.



4. Wynik należy interpretować po upływie 10 minut. Po upływie więcej jak 15 minut nie interpretować wyniku.

B. Wymazy z gardła.

1. Trzymać buteleczkę z buforem ekstrakcyjnym "Extraction buffer Ebola" pionowo i dodać 9 kropli bufora ekstrakcyjnego "Extraction buffer Ebola" do rurki ekstrakcyjnej. Stosować wyłącznie bufor ekstrakcyjny dołączony do tego zestawu testowego.
2. Wprowadzić dołączony sterylny wacik wymazu do jamy ustnej pacjenta. Przycisnąć wacik bardzo delikatnie, do momentu poczucia oporu na wysokości gardła.
3. Obrócić delikatnie wacik wymazu kilka razy w kierunku słuźwki.
4. Wprowadzić wacik wymazu z wymazem z gardła niezwłocznie do probówki ekstrakcyjnej, ścisnąć końcówkę probówki i przekręcić mocno wacik z wymazem, aby wymieszać odczynnik przynajmniej przez jedną minutę. Przycisnąć wacik do wewnętrznej ścianki probówki i wycisnąć tak dużo cieczy, jak tylko możliwe z wacika wymazu, poprzez przyciśnięcie włókniastej części wacika wymazu pod wpływem ruchów obrotowych do ścianki probówki. Należy zutilizować wacik wymazu.
5. Pozostawić mieszaninę do inkubacji przez 1 do 15 minut.
6. Wymieszać zawartość probówki ponownie przez delikatne kołysanie.
7. Mieszanina jest teraz gotowa do badania. Pobrać mieszaninę przy pomocy dołączonej pipety transferowej Trzymać pipetę transferową nad zagłębieniem próbki (S) kasyety testowej i dodać 6 kropel do zagłębienia na próbkę (S). Czekać po każdej kropli, aż ta w zupełności się wchłonie, przed dodaniem kolejnej kropli. Włączyć stoper.



8. Wynik należy interpretować po upływie 10 minut. Po upływie więcej jak 15 minut nie odczytywać wyników.



10. Interpretacja wyników

Pozytywne:

Pojawiają się dwie wyraźne kolorowe linie. Jedna kolorowa linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej (C), druga kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej (T).

Każda widoczna kolorowa linia, pojawiająca się w obszarze linii testowych (T), powinna być interpretowana jako pozytywna, nawet jeżeli ta linia testowa jest jaśniejsza lub ciemniejsza niż linia w obszarze kontrolnym (C).



Negatywne:

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



Nieważny:

Linia kontrolna nie pojawia się. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytworzyły linii kontrolnej, muszą zostać odrzucone.



Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniejszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej. Sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowej kasety testowej. Jeżeli problem będzie występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

11. Kontrola jakości

Test kasetowy zawiera wewnętrzną kontrolę:

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

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Ebola został opracowany do jakościowego oznaczania diagnostycznego *in-vitro* antygenu wirusa Ebola VP40 w ludzkiej surowicy i próbkach wymazu z gardła. Inne płyny ustrojowe lub mieszaniny próbek mogą prowadzić do niedokładnych wyników i nie powinny być stosowane.
- Test NADAL® Ebola powinien być stosowany wyłącznie z próbkami pacjentów z podejrzeniem infekcji Ebola (choroby gorączkowej) jako środek pomocniczy do rozpoznawania gorączki krwotocznej gorączki Ebola. Test nie powinien być traktowany jako jedyne kryterium do diagnozowania infekcji Ebola.
- Test NADAL® Ebola wykazuje obecność wirionów ebola przy koncentracjach $\geq 10^6$ PFU/ml w próbce. Dlatego test ten powinien być stosowany do wykluczania infekcji Ebola.
- Wyniki mogą być interpretowane wyłącznie przez lekarza.

- Wyniki powinny być interpretowane wyłącznie razem z klinicznymi informacjami, objawami, metodami i innymi procesami diagnostyki *in-vitro*, jak np. techniki PCR.
- Intensywność kolorowej linii w obszarze linii testowej nie koreluje z mianem antygenu w próbce.
- Wynik negatywny w żadnym wypadku nie wyklucza infekcji Ebola.
- Wynik pozytywny powinien zostać potwierdzony przy pomocy innej metody, a sam wynik powinien być interpretowany przy uwzględnieniu ogólnych klinicznych opinii.
- Falszywie pozytywne ewentualnie fałszywie negatywne wyniki mogą być spowodowane przez:
 - Niewystarczającą objętość próbki lub zastosowanie niewłaściwej techniki.
 - Zastosowanie nieodpowiednich próbek lub materiałów (inne bufor, niż te zawarte w zestawie testowym, inne ilości próbek i buforów niż podane).
 - Nieprzestrzeganie czasu inkubacji minimum 1 minuty dla próbek oraz buforów ekstrakcyjnych.
 - Nieprzestrzeganie czasu oczekiwania 10 minut po nałożeniu mieszaniny na kasetę testową.
- Niskie miana Ebola mogą prowadzić po długim czasie oczekiwania do słabej linii w obszarze linii testowych.
- Przy wyższym stężeniu antygenów w próbce, tzw. "Efekt Hooka" mogą pojawić się fałszywie negatywne wyniki.
- Oprócz EDTA na chwilę obecną nie są znane substancje, które powodują reakcje krzyżowe.

13. Charakterystyka testu

Wydajność testu NADAL® Ebola została porównana z PCR-System RealStar® Ebolavirus RT-PCR Kit 1.0, na podstawie próbek afrykańskich pacjentów z Konarky w Gwinei.

		Test NADAL® Ebola		
		+	--	Suma
PCR	+	12	1	13
	--	2	103	105
	Suma	14	104	118

Analityczna czułość: \leq CT 23

Swoistość: 98%

14. Bibliografia

1. Lucht A, Grunow R, Möller P, Feldmann H, Becker S: Development, characterization and use of monoclonal antibodies for the detection of Ebola virus. *J Virol Methods* 2003; 111:21-8
2. Grolla A, Lucht A, Dick D, Strong JE, Feldmann H: Laboratory diagnosis of Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Bull Soc Pathol Exot* 2005; 98:205-9
3. Becker S, Feldmann H, Will C, Slenczka W: Evidence of occurrence of filovirus antibodies in humans and imported monkeys: Do subclinical filovirus infections occur worldwide? *Med Microbiol Immunol* 1992; 181:43-55
4. World Health Organization. Outbreak(s) of Ebola haemorrhagic fever in the Republic of Congo, January-April 2003. *Wkly Epidemiol Rec* 2003; 78:285-9
5. Hartmann H, Lübbers B, Cararetto M, Bausch W, Klos A, Köhl J: Rapid quantification of C3a and C5a using a combination of chromatographic and immunoassay procedures. *J Immunol Methods* 1993; 166:35-44
6. Ksiazek TG, Rollin PE, Jahrling PB, Johnson E, Dalgaard DW, Peters CJ: Enzyme immunoassay for Ebola virus antigens in tissues of infected primates. *J Clin Microbiol* 1992; 30:947-50
7. National Committee for Clinical Standards Clinical Waste Management: Approved Guideline. NCCLS Document GPS-A. Villanova, PA: NCCLS 1993; 13:1-18, 29-42
8. Townner JS, Rollin PE, Bausch DG, Sanchez A, Crary SM, Vincent M, Lee WF, Spiropoulou CF, Ksiazek TG, Lukwima M, Kaducu F, Downing R, Nichol ST: Rapid diagnosis of Ebola hemorrhagic fever by reverse transcription-PCR in an outbreak setting and assessment of patient viral load as a predictor of outcome. *J Virol* 2004; 78:4330-41

Rev. 0, 2015-05-26 AM

1. Avsedd användning

NADAL® Ebola Test (serum/halsprov) är en snabb kromatografisk immunoassay för den kvalitativa detektionen av *Ebolavirus* antigen i humana serum eller halsprover. Testet är avsett att användas som ett hjälpmedel för att detektera Ebolainfektioner i febriga förhållanden i samband med med klinisk information/metoder och andra *in-vitro* diagnostiska procedurer.

2. Introduktion och klinisk signifikans

Ebolafeber (Ebola Virus Disease (EVD)) också känt som Ebola hemorragisk feber (EHF) är en allvarlig, ofta dödlig sjukdom för människor och icke-humana primater (apor, gorillor och schimpanser) som har uppkommit sporadiskt. Släktet *Ebolavirus* är en av de tre medlemmarna i *Filoviridae* familjen av RNA virus. Det finns fem identifierade arter i släktet *Ebolavirus*: *Zaire Ebolavirus* (EBOV), *Sudan Ebolavirus* (SUDV), *Reston Ebolavirus* (RESTV), *Bundibugyo Ebolavirus* (BDBV) och *Tai Forest Ebolavirus* (TAFV). Upp till 90 % av utbrotten orsakas av *Zaire Ebolavirus*.

3. Testprincip

NADAL® Ebola Test är en snabb, kvalitativ, membran-baserad immunoassay för detektion av VP40 antigen av Ebolaviruset i humana serum eller halsprover.

Efter att provet applicerats till testbrunnen, reagerar det med anti-Ebola-antikroppar belagda med partiklar (anti-Ebola antikropp-partikel komplex). Provet migrerar längs membranet genom kapillärkraft.

När provet når testlinjeområdet, reagerar antigener bundna till anti-Ebola antikropp-partikel komplexet med reagensen, som är anti-Ebola antikroppar immobiliserade i membranet i testlinjeområdet, och genererar en färgad linje.

Uppkomsten av en färgad linje i testlinjeområdet indikerar ett positivt resultat (förekomsten av Ebola antigen), medan linjens frånvaro indikerar ett negativt resultat.

Uppkomsten av en färgad linje i kontrollinjeområdet fungerar som en procedurkontroll, som indikerar att en tillräcklig mängd provolytm tillsatts och att membranet fuktats ordentligt.

4. Reagens och tillhandahållet material

- 20 NADAL® Ebola testkassetter (innehållande pariklar belagda med anti-Ebola antikroppar och anti-mus IgG immobiliserade på nitrocellulosa membranet).

- 20 transferpipetter
- 20 extraktionsrör
- Ytterligare tillhandahållet material enligt 93/42/EEC: 20 sterila polyester-topp svabbar CE 0086

Puritan Medical Products Company LLC

31 School Street

Guilford, Maine 04443-0149 USA (auktoriserad EU representant EMERGO EUROPE, The Hague, The Netherlands)

- 1 extraktionsbuffert „Extraction buffer Ebola“ (10 ml)
- 1 provrörsställ
- 1 användarinstruktion

5. Nödvändigt material – ej tillhandahållet

- Timer
- Insamlingsenhet för serum

6. Förvaring och hållbarhet

Förvara oöppnade tester vid 4°C till 30°C, och använd dessa fram till det utgångsdatum som anges på den förseglade foliepåsen. Testkassetten måste vara kvar i den förseglade foliepåsen fram tills testet ska utföras. Använd inte någon komponent av testkitet efter att det angivna utgångsdatumet passerats. Frys ej testkitet. Testkassetterna är känsliga för ljus och fuktighet. Därför ska testkassetter som blivit blöta eller med skadade foliepåsar inte användas. Efter att den förseglade foliepåsen öppnats, ska testets utföras omedelbart eller max inom 1 timme. Efter att buffertflaskan öppnats, kan extraktionsbufferten förvaras vid 4°C till 30°C och användas säkert i 3 månader.

7. Varningsföreskrifter

- Endast för professionellt *in-vitro* diagnostiskt bruk.
- Läs noga igenom testproceduren innan testet utförs.
- Använd ej test efter att det angivna utgångsdatumet passerats.
- Använd ej test om foliepåsen är skadad.
- Återanvänd ej test.
- Applicera ej prover till reaktionsområdet (resultatområdet).
- För att undvika kontaminering, vidrör ej reaktionsområdet (resultatområdet).
- Undvik korskontaminering av prover genom att använda ett nytt extraktionsrör för varje prov.
- Byt inte ut eller blanda komponenter från olika testkit.
- Ät, drick eller rök ej i närheten av var prover och testkit hanteras.
- Bär skyddsklädsel som laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon när prover analyseras.
- Hantera alla prover som om de innehåller smittoämnen. Följ etablerade försiktighetsåtgärder för mikrobiologiska risker under hela proceduren och standardiserade riktlinjer för korrekt kassering av prover.
- Testkitet innehåller produkter av animaliskt ursprung. Certifierad kunskap om ursprung och/eller det sanitära tillståndet hos djuren kan inte helt garantera frånvaron av överförbara patogeniska agenter. Det rekommenderas därför att att dessa produkter behandlas som potentiellt smittsamma, och hanteras i enlighet med sedvanliga säkerhetsåtgärder (t.ex. inte förtäras eller andas in).
- Använd ej svabbar från skadade påsar.
- Fuktighet och temperatur kan påverka testresultaten.
- Använt testmaterial ska dekontamineras och kasseras enligt lokala bestämmelser.

8. Provinsamling och förberedelse

Prover ska samlas in, hanteras och fraktas enligt lämpliga smittskydds- och försiktighetsåtgärder för Ebola, andra hemorragiska febvirus eller andra smittsamma sjukdomar. Frakt kan utföras enligt avsändarens policy, tullens bestämmelser och kraven från det mottagande laboratoriet. Om prover ska transporteras, ska de förpackas i enlighet med de föreskrifter som finns för transport av etiologiska agenser.

Serum

Använd endast humant serum som samlats in och förberett enligt tillverkarens instruktioner för provinsamlingsenheten vid provtagning.

Använd endast klara, icke-hemolyserade prover.

Serum kan förvaras vid 2°C till 8°C upp till 3 dagar. För längre förvaring, ska prover förvaras under -20°C.

Låt prover nå rumstemperatur innan testet utförs. Frysta prover måste vara helt tinade och välblandade innan testet utförs.

Prover ska inte frysas och tinas flera gånger.

Halsprov

Använd endast rumstempererade (15°C till 30°C) prover.

Använd endast färska halsprover. Förvara och frys ej halsprover.

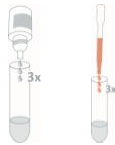
9. Testprocedur

Låt testkomponenterna och proverna nå rumstemperatur (15°C till 30°C) innan testet utförs.

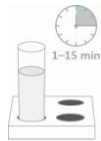
- Tag ut testkassetten ur den förseglade foliepåsen och använd denna så snart som möjligt. Testet ska utföras inom 1 timme efter att den förseglade foliepåsen öppnats.
- Placera testkassetten på en ren och plan yta.
- Märk testkassetten med patient- eller kontrollidentifikation.
- Märk extraktionsröret med patient- eller kontrollidentifikationen och placera röret i provrörsstället.

A. Serum

1. Håll extraktionsbuffertflaskan vertikalt och tillsätt 3 droppar (ungefär 100 µl) av bufferten „Extraction buffer Ebola“ till extraktionsröret. Använd endast bufferten „Extraction buffer Ebola“ som tillhör testkitet.



2. Håll den tillhandahållna transferpipetten vertikalt och överför 3 droppar (ungefär 100 µl) av serumprovet till extraktionsröret. Inkubera lösningen i 1 till 15 minuter.



3. Nu är lösningen redo att testas. Fyll den tillhandahållna transferpipetten med lösningen. Håll pipetten vertikalt över testbrunnen (S) på testkassetten, och tillsätt hela lösningen till testbrunnen (S). Vänta tills varje droppe har absorberats innan du tillsätter nästa. Starta timern.



4. Avläs resultatet efter 10 minuter. Tolka inte resultatet efter mer än 15 minuter.

B. Halsprov

1. Håll extraktionsbuffertflaskan vertikalt och tillsätt 9 droppar av bufferten „Extraction buffer Ebola“ till extraktionsröret. Använd endast bufferten „Extraction buffer Ebola“ som tillhör testkitet.



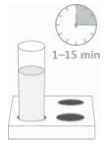
2. Sätt in den tillhandahållna sterila svabben i patientens munhåla. För fram svabben väldigt försiktigt tills du möter motstånd i nivå med svalget.

3. Roter svabben försiktigt några gånger mot slemhinnan.

4. Sätt omedelbart in svabben med det insamlade halsprovet i extraktionsröret, komprimera botten av röret och rotera svabben kraftigt för att blanda reagensen i minst 1 minut. Tryck svabben mot insidan av röret, och pressa ut så mycket vätska som möjligt från svabben genom att rotera och pressa fiberdelen mot väggen av röret. Kassera svabben.

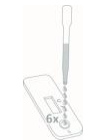


5. Låt lösningen inkubera i 1 till 15 minuter.



6. Blanda innehållet i röret genom att snurra den försiktigt.

7. Nu är lösningen redo att testas. Fyll den tillhandahållna pipetten med lösningen. Håll pipetten över testbrunnen (S) på testkassetten, och tillsätt 6 droppar till testbrunnen (S). Vänta tills varje droppe absorberats innan du tillsätter nästa. Starta timern.



8. Avläs resultatet efter 10 minuter.

Tolka inte resultatet efter mer än 15 minuter.



10. Tolkning av resultat

Positivt:

Två distinkt färgade linjer framstår. En linje framstår i kontrollinjeområdet (C) och en linje framstår i testlinjeområdet (T).



Varje färgad linje, som framstår i testlinjeområdet (T), ska tolkas som positivt, även om testlinjen (T) är ljusare eller mörkare än kontrollinjen (C).

Negativt:

En färgad linje framstår i kontrollinjeområdet (C). Ingen linje framstår i testlinjeområdet (T).



Ogiltigt:

Kontrollinjen (C) är frånvarande. Resultat från tester som inte har framkallat en kontrollinje under den specifika avläsningstiden är ogiltiga och måste kasseras.



Otillräcklig provvolym, felaktigt testutförande eller utgångna tester är de mest sannolika orsakerna till att kontrollinjen är frånvarande. Vänligen läs igenom proceduren och upprepa testet med en ny testkasset. Om problemet kvarstår, avbryt omedelbart användningen av testkitet och kontakta din återförsäljare.

11. Kvalitetskontroll

En intern procedurkontroll finns inkluderat i testkassetten:

En färgad linje som framstår i kontrollinjeområdet (C) är ämnat som en intern procedurkontroll. Kontrollinjen bekräftar att tillräcklig provvolym tillsatts, att membranet fuktats ordentligt och att korrekt teknik använts vid testutförandet.

12. Begränsningar

- NADAL® Ebola Test är avsedd för kvalitativ *in-vitro* detektion av VP40 antigen av Ebolavirus i humana serum och halsprover. Andra kroppsvätskor och sammanslagna prover kan ge felaktiga resultat och ska inte användas.
- NADAL® Ebola Test ska endast användas med prover från patienter med misstänkt Ebolainfektion (febersjukdomar) som ett hjälpmedel att detektera Ebola hemorragisk feber. Det ska inte användas som det enda kriteriet för att diagnostisera Ebolainfektioner.
- NADAL® Ebola Test detekterar närvaron av Ebolavirioner vid densiteter av $\geq 10^5$ PFU/ml i provet. Därför ska testet inte användas för att utesluta Ebolainfektioner.
- Resultaten ska endast tolkas av en läkare.
- Resultaten ska endast användas i kombination med klinisk information/symtom/metoder och andra *in-vitro* diagnostiska procedurer (t.ex. PCR tekniker).
- Intensiteten av den färgade linjen i testlinjeområdet (T) korrelerar inte med de antigen titrar i provet.
- Ett negativt resultat utesluter inte möjligheten av en Ebolainfektion.
- Ett positivt resultat ska verifieras genom att använda en annan metod och ska utvärderas tillsammans med den övergripande kliniska utvärderingen.
- Falsk-positiva eller falsk-negativa resultat kan orsakas av:
 - Otillräcklig provvolym eller felaktigt testutförande
 - Användandet av olämpliga prover eller material (en annan buffert än den som medföljer testkitet, andra volymer av prover och buffert än det som anges)
 - Att bortse från inkubationstiden på minst 1 minut av prov och extraktionsbuffert
 - Att bortse från väntetiden på 10 minuter efter att ha tillsatt blandningen till testkassetten
- Låga titrar av Ebola kan resultera i att en svag linje framstår i testlinjeområdet (T) efter en längre tid.
- ”Hook effekten” vid fall av väldigt höga antigen nivåer i provet kan leda till falsk-negativa resultat.
- Bortsett från EDTA, har ingen substans påvisats att framkalla korsreaktioner.

13. Prestanda

Prestandan för NADAL® Ebola Test har jämförts med PCR systemet RealStar® Ebola virus RT-PCR Kit 1.0 med prover från afrikanska patienter från Conakry i Guinea.

		NADAL® Ebola Test		
		+	--	Totalt
PCR	+	12	1	13
	--	2	103	105
	Totalt	14	104	118










Analytisk sensitivitet: \leq CT 23

Specifitet: 98 %

14. Referenser

- Lucht A, Grunow R, Möller P, Feldmann H, Becker S: Development, characterization and use of monoclonal antibodies for the detection of Ebola virus. *J Virol Methods* 2003; 111:21-8
- Grolla A, Lucht A, Dick D, Strong JE, Feldmann H: Laboratory diagnosis of Ebola and Marburg hemorrhagic fever. *Bull Soc Pathol Exot* 2005; 98:205-9
- Becker S, Feldmann H, Will C, Slenczka W: Evidence of occurrence of filovirus antibodies in humans and imported monkeys: Do subclinical filovirus infections occur worldwide? *Med Microbiol Immunol* 1992; 181:43-55
- World Health Organization. Outbreak(s) of Ebola haemorrhagic fever in the Republic of Congo, January-April 2003. *Wkly Epidemiol Rec* 2003; 78:285-9
- Hartmann H, Lübbers B, Cararetto M, Bausch W, Klos A, Köhl J. Rapid quantification of C3a and C5a using a combination of chromatographic and immunoassay procedures. *J Immunol Methods* 1993; 166:35-44
- Ksiazek TG, Rollin PE, Jahrling PB, Johnson E, Dalgard DW, Peters CJ: Enzyme immunoassay for Ebola virus antigens in tissues of infected primates. *J Clin Microbiol* 1992; 30:947-50
- National Committee for Clinical Standards Clinical Waste Management: Approved Guideline. NCCLS Document GPS-A. Villanova, PA: NCCLS 1993; 13:1-18, 29-42
- Towner JS, Rollin PE, Bausch DG, Sanchez A, Crary SM, Vincent M, Lee WF, Spiropoulou CF, Ksiazek TG, Lukwya M, Kaducu F, Downing R, Nichol ST: Rapid diagnosis of ebola hemorrhagic fever by reverse transcription-PCR in an outbreak setting and assessment of patient viral load as a predictor of outcome. *J Virol* 2004; 78:4330-41

Rev. 0, 2015-05-26 DL

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 diagnosticc in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Tylko do diagnostyki in vitro
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Limitación de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Code du lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour pour "n" tests	Válido para para <n> ensayos	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk
	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro	In vitro - diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinällinen 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	Spotřebuje do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Bestilingsnummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test

Our Teams

Germany:

Regensburg

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

Moers

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

Austria:

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

UK & Ireland:

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

France:

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

Switzerland

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

Belgium

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

Luxembourg

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

Spain:

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

Italy:

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

Poland:

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

Portugal:

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

Netherlands:

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

Denmark:

Tel: +31 703075 603
Free Tel: +45 80 88 87 53
Tax: +31 703030 775

Laboratory Diagnostics Team:

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



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

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

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