

Capilia™ TB-Neo

INTENDED USE

To detect *M. tuberculosis* complex antigens in a suspension of bacteria cultured on the medium for acid-fast bacteria (AFB) or in a portion of the liquid medium for AFB in which bacteria have been cultured (to assist in the diagnosis of tuberculosis).

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Tuberculosis ("TB") is a chronic disease caused by infection with *Mycobacterium tuberculosis*. The annual number of new TB cases is around 8.8 million, and the number of deaths from TB is around 1.5 million.

The number of infections by non-tuberculous mycobacteria ("NTM") has been increasing in recent years. NTM symptoms can be similar to those caused by TB. It is critical to distinguish NTM infections from TB to determine the appropriate treatment because many NTM are resistant to ordinary anti-tuberculous drugs.

Definite diagnosis of TB is made by detecting *M. tuberculosis* from a clinical sample.

The results for the conventional detection method of the *M. tuberculosis* complex (including the niacin accumulation test) usually requires 4 to 8 weeks.

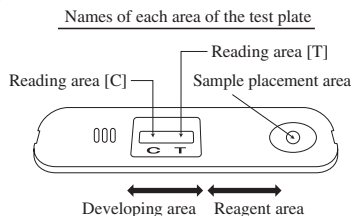
Recently, a nucleic acid probe-based identification method has been developed as a tool for rapid detection of the *M. tuberculosis* complex. However, it requires cumbersome handling procedures, special instruments/equipment and skilled operators.

Capilia TB-Neo adopts an immunochromatography method, which can detect the MPB64 antigens specifically produced by the *M. tuberculosis* complex.

Capilia TB-Neo is able to detect the *M. tuberculosis* complex in bacterial isolates specifically and with a high degree of sensitivity, and to provide rapid test results by a simple operation. No special instruments or equipment are required.

PRINCIPLE OF THE TEST

This product comprises a test plate with a carrier strip containing a sample placement area, a reagent area including a colloidal gold labeled anti-MPB64 monoclonal antibody (mouse) (hereafter referred to as "colloidal gold labeled anti-MPB64 antibody") and a developing area that fixes the anti-MPB64 monoclonal antibody (mouse) (hereafter referred to as "anti-MPB64 antibody").



When a sample is placed on the sample placement area of the test plate, the colloidal gold labeled anti-MPB64 antibody dissolves and forms an immune complex with MPB64 antigens in the sample. This immune complex migrates through the developing area by capillary action, is captured by the anti-MPB antibody fixed in the developing area, and forms a red purple line of colloidal gold in the reading area [T].

The red purple line visually displays the existence of MPB64 antigens in the sample.

Regardless of the existence of the MPB64 antigens in the sample, excess colloidal gold labeled anti-MPB64 antibody further migrates through the developing area, are captured by anti-mouse immunoglobulin antibodies fixed in the developing area, and form a red purple line in the reading area [C]. This means the colloidal gold labeled anti-MPB64 antibodies have migrated normally.

REAGENTS AND MATERIALS PROVIDED

[REF] CATB0870 Capilia TB-Neo (100 Tests)

[REF] CATB0871 Capilia TB-Neo (10 Tests)

Test plates

• Components

Colloidal gold labeled anti-MPB64 monoclonal antibody (mouse)
Anti-MPB64 monoclonal antibody (mouse)

MATERIALS REQUIRED BUT SOLD SEPARATELY

[REF] CATB0877 Capilia TB-Neo Extraction Buffer (20 mL/Bottle)

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Timer, micropipette, pipette tips

WARNING AND PRECAUTIONS

1. Precautions when handling samples

- 1) Use a suspension of bacteria cultured on the medium for AFB or a bacterial culture liquid as a sample. No clinical samples such as a human body fluid, tissue or bronchial lavage fluid can be directly used as they are as samples.
- 2) Cultured samples must be used immediately for testing.^{Note}
- 3) Bacteria inoculated in the media for AFB must be carefully handled as they may cause infections.
- 4) Some samples including substrains of *Mycobacterium bovis* BCG among the *M. tuberculosis* complex (Copenhagen, Glaxo, Pasteur, and Tice) are interpreted as negative, because no MPB64 is produced from these substrains.
- 5) Although no cross reactivity with 4 strains of *M. marinum*, which are described in the "Cross reactivity" section, was observed, cross reactivity with other strains of *M. marinum* has not yet been studied.
- 6) This product is unable to differentiate each of the *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* and *M. microti*, from the others even if the *M. tuberculosis* complex test results are positive.
- 7) Strains with a mutated MPB64 gene may not be detected by this product.

^{Note} Positive cultures in liquid media and colonies on solid media can be tested for as long as one year when stored at -80°C for testing.

2. Precautions when using

- 1) This product is a rapid test for identification of *M. tuberculosis* complex.
Any clinical diagnosis should be made by an attending physician, in combination with the clinical symptoms, and other test results.
- 2) This product should be used in accordance with the procedure stated in this package insert.
- 3) In order to prevent deterioration, this product should be stored between 2°C and 30°C, avoiding high temperatures, high humidity and direct sunlight.

4) If this product has been refrigerated, it must be removed from the refrigerator at least 30 minutes before use to be acclimatized to room temperature.

5) **The aluminum pouches containing the test plates should not be opened until they are about to be used.**

6) The sample placement area and the reading area of the test plate should not be touched with the hands.

3. Precautions for disposal

- 1) Because used test plates, pipette tips, remaining samples and other test materials/devices used for identification of the *M. tuberculosis* complex may cause infections, they should be autoclaved (at 121°C, for over 30 min) before disposal.
- 2) When sterilized used reagents or other test materials are disposed of, they should be treated in accordance with the laws and regulations concerning medical waste disposal and water pollution control.

STORAGE CONDITIONS

Storage : Store at 2°C to 30°C.

DO NOT FREEZE.

Keep away from direct sunlight.

Do not use test plate beyond the expiration date.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

1. Methods of sample collection

- 1) Use a suspension of bacteria cultured on the medium for AFB or a bacterial culture liquid as a sample. No clinical samples such as a human body fluid, tissue or bronchial lavage fluid can be directly used, as they are as samples.
- 2) The testing laboratory that handles *M. tuberculosis* must be isolated from the external space by dual doors and the mycobacteria must be handled in a biological safety cabinet.
- 3) Bacteria inoculated into the media for AFB must be carefully handled, as they may cause infections.
- 4) Dispense samples with a micropipette and use a new tip with a filter for dispensing each sample.

2. Sample preparation

After completing appropriate pretreatment^{Note} of clinical samples such as human body fluids, tissue and bronchial lavage fluid, inoculate the sample into a culture medium for AFB.

^{Note} Example of pretreatment of sputum:

• N-acetyl-L-cysteine-sodium hydroxide (NALC-NaOH) method:

Add at least a 2-fold volume of NALC-NaOH solution to the container containing the collected sputum, stir the container with a vortex mixer and invert the container to expose the inside of the screw cap and the inner wall of the tube to the NALC-NaOH solution. Allow the container to stand at room temperature for 15 min and intermittently shake it lightly by hand. After adding a cold-sterilized, 10-fold volume of phosphate-buffered (PB) solution (pH 6.8) to the container and mixing it, centrifuge 3,000 × g for 20 min. Suspend the precipitate in 1 mL of PB solution. Then, inoculate 0.1 mL of the suspension into a 1% Ogawa medium or inoculate 0.5 mL of the same into a liquid medium.

• 4% sodium hydroxide method:

Add at least a 2-fold volume of 4% sodium hydroxide solution to the container containing the collected sputum, fully homogenize the mixture and immediately inoculate 0.1 mL of the mixture into a 3% Ogawa medium.

- 1) In the case of using a **liquid medium** for AFB (Example: Middle Brook 7H9 broth) Incubate at 37°C for 1 to 3 weeks until the liquid medium becomes cloudy, because of the growth of bacteria. In the event that a Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) is used, incubate until a positive interpretation is possible. In both cases, it is necessary to confirm the presence of AFB by acid-fast staining. Stir the liquid medium in the culture tube and use the medium as a sample.
 - ① Dispense 0.2mL of extraction buffer (sold separately) into a tube.
 - ② Remove 1 μL (equivalent to the amount of a 1 mm-diameter platinum micro-loop) from the bacterial colony that has grown on the solid medium.
 - ③ Suspend the collected bacteria in the buffer solution in the tube.
 - ④ Close the tube with a stopper and fully suspend with a vortex mixer. Then, use the bacterial suspension for samples.
- 2) In the case of using a **solid medium** for AFB (Example: Ogawa medium) Incubate at 37°C for 2 to 4 weeks until the growth of bacterial colonies is confirmed on the solid medium, and then confirm the presence of AFB by acid-fast staining.

TEST PROCEDURE

- 1) Dispense 80–100 μL of sample onto the sample placement area of the test plate.
- 2) Observe the reading area of the test plate after 15 min and interpret the result according to the "READING TEST RESULTS."

READING THE RESULTS

Allow the samples to react according to the procedure and read the red purple lines that appear in the reading area.

Positive	When red purple lines are seen at both [T] and [C] in the reading area (two lines), the result is read as positive. When a very faint red purple line is seen at [T] in the reading area, the result is also interpreted as positive.
Negative	When no red purple line is seen at [T] in the reading area but a red purple line is seen only at [C] in the reading area (one line), the result is read as negative. When a red purple line at [C] in the reading area is faint but visually recognizable, chromatographic development has occurred normally.
Retesting	When no red purple line is seen at [C] in the reading area, there may be some problem with the test procedure or the reagent quality. The test should be performed again, using another test plate.

If the line falls within any of the sections of the reading area, at whatever point, the test is considered valid. (The boundaries between the sections of the reading area are shown by the nicks in the reading window frame.)

(Note)

- 1) If no line is seen at [C] in the reading area, there may be some problem with the test procedure or the reagent quality. Therefore, the test should be performed again, using another test plate.
- 2) Do not use the test plate for a reading result beyond the judgement time (15 minutes) as result may change due to drying, etc.
- 3) If a test result using this product is interpreted as positive, the presence of the *M. tuberculosis* complex in the sample is strongly suggested. However, there is a possibility of combined infections of *M. tuberculosis* and NTM, and an infection with NTM cannot be excluded.
- 4) The sample placement area or the reading area of the test plate should not be touched with the hands.
- 5) Dispense samples with a micropipette and use a new tip with a filter for dispensing each sample.

6. Even if a test result using this product is interpreted as negative, this may be due to its inability to detect the *M. tuberculosis* complex when the MPB64 concentration in the sample is below the detection limit or a mutation arises in the MPB64 gene of the *M. tuberculosis* complex. (22) Therefore, a negative result does not necessarily rule out the possibility of infection with *M. tuberculosis*.

Any clinical diagnosis must be made by an attending physician, in combination with the clinical symptoms and other test results.

LIMITATIONS

- As cultures containing AFB and so forth are employed for the tests using this product, the operation described in this package insert must be conducted in a biological safety cabinet, and used test plates must be handled with appropriate precautions as they may cause infections.
- The test plate should be used immediately after opening the packaging. When it absorbs moisture, the quality deteriorates and an accurate result cannot be obtained.
- Any clinical diagnosis must be made by an attending physician, in combination with the clinical symptoms and other test results.
- Please use this product following the operational method and precautions described in this package insert. We cannot guarantee results obtained from any other operations and for any other purposes that are not described in the package insert.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Correlation data

1) WHO Strains of *M. tuberculosis*

		Control product		
		Positive	Negative	Total
This product	Positive	70	0	70
	Negative	0	0	0
	Total	70	0	70

Sensitivity : 100% (70/70)
 Specificity : - (0/0)
 Accuracy : 100% (70/70)

As the above data show, positive results were also obtained with this product for all of the 70 WHO strains of *M. tuberculosis* for which positive results were obtained with the control product.

2) Clinical Isolate of *M. tuberculosis*

		Control product		
		Positive	Negative	Total
This product	Positive	46	0	46
	Negative	0	5 ^{Note}	5
	Total	46	5	51

Sensitivity : 100% (46/46)
 Specificity : 100% (5/5)
 Accuracy : 100% (51/51)

As the above data show, positive results were also obtained with this product for all of the 46 clinical isolates of *M. tuberculosis* for which positive results were obtained with the control product.

^{Note} A gene analysis for 5 clinical isolates of *M. tuberculosis* for which negative results were obtained by the control product, as well as by this product, revealed that there was mutation in the base sequence of the MPB64 gene, so that those isolates were mutants in which the expression of the MPB64 protein was incomplete.

2. Sensitivity (Detection limit)

The minimum detection limit is 1.2 × 10⁶ CFU/mL.

3. Reactivity

1) Strains demonstrating the production of MPB64

A reaction was observed with the following 8 strains.

<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	<i>M. tuberculosis</i> H37Ra	<i>M. africanum</i>
<i>M. bovis</i> deer	<i>M. microti</i>	<i>M. bovis</i> BCG-Tokyo
<i>M. bovis</i> BCG-Russia	<i>M. bovis</i> BCG-Moreau	

2) Strains demonstrating no production of MPB64

No reaction was observed with the following 2 strains.

<i>M. bovis</i> BCG-Pasteur	<i>M. bovis</i> BCG-Tice
-----------------------------	--------------------------

4. Cross reactivity

The reactivity with the following non-tuberculous mycobacteria was checked and an absence of cross reactivity has been confirmed with all of them.

<i>M. kansasii</i>	<i>M. simiae</i>	<i>M. asiaticum</i>
<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. goodii</i>	<i>M. avium</i>
<i>M. intracellulare</i>	<i>M. nonchromogenicum</i>	<i>M. szulgai</i>
<i>M. terrae</i>	<i>M. xenopi</i>	<i>M. ulcerans</i>
<i>M. fortuitum</i>	<i>M. chelonae</i>	<i>M. abscessus</i>
<i>M. smegmatis</i>	<i>M. vaccae</i>	<i>M. flavescens</i>
<i>M. marinum</i> JATA22-01	<i>M. marinum</i> 351-2	<i>M. marinum</i> 329
<i>M. marinum</i> 60		

INTERFERING SUBSTANCES

Clinical tests have been carried out for this product using cultures from sputum, bronchial lavage fluid, pleural effusion, gastric juice and purulent fluid as samples, and no interference in the test results by clinical samples has so far been observed. In addition, we have used the following media for AFB, and no interference in the test results by the media was observed:

- Egg-based media: 3% Ogawa media, 2% Ogawa media, 1% Ogawa media, Lowenstein-Jensen (LJ) media
- Agar media: Middle Brook 7H10 agar media, Middle Brook 7H11 agar media
- Liquid media: Middle Brook 7H9 liquid media, Dubos liquid media, Kirchner media, Sauton's media

As explained above, no impact from different kinds of clinical samples or culture media has so far been found in the study. However, it is not known whether or not any other substances present in samples may affect test results.

REFERENCES

- 1) Mori T. Current status of tuberculosis [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:491-498.
- 2) Shimouchi A. Tuberculosis in overseas [in Japanese]. *Clin Microbiol.* 1997;24:9-14.
- 3) Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Health Service Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare. *Statistics of Tuberculosis in 2004* [in Japanese]. Japan Anti-Tuberculosis Association;2004.
- 4) Koyama A, et al. *Non-tuberculous Mycobacterium Infection* [in Japanese]. Japan Anti-Tuberculosis Association;1998. JATA Books No.11.


- 5) Okada J. Acid fast bacillus [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1996;40:589-594.
- 6) Kanai M, et al. Clinical bacterial test. In: Kanai M, et al. *Kanai's Manual of Clinical Laboratory Medicine*, 30th ed [in Japanese]. Kanehara & Co;1993.
- 7) Saito H, Abe C, et al. *Acid Fast Bacillus Tests* [in Japanese]. Ishiyaku Publishers;1997.
- 8) Nagasawa M, et al. Identification of the *M. tuberculosis* complex and *M. avium* complex by chemiluminescence labeled DNA probe [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1992;36:197-200.
- 9) Kusaba K, et al. Nucleic acid identification from culture isolation [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:527-531.
- 10) Goto M. Nucleic acid identification from direct clinical specimen [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:533-539.
- 11) Abe C. Application of nucleic acid amplification to detection of tuberculosis bacteria and diagnosis [in Japanese]. *Exp Med.* 1887;15:805-807.
- 12) Harboe M, et al. Properties of proteins MPB64, MPB70, and MPB80 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1986;52:293-302.
- 13) Oettinger T, et al. Cloning and B-cell-epitope mapping of MPT64 from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Infect Immun.* 1994;62:2058-2064.
- 14) Yamaguchi R, et al. Cloning and characterization of the gene for immunogenic protein MPB64 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1986;57:283-288.
- 15) Andersen AB, et al. MPB64 possesses "tuberculosis-complex"-specific B- and T-cell epitopes. *Scand J Immunol.* 1991;34:365-372.
- 16) Li H, et al. Evidence for absence of the MPB64 gene in some strains of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1993;61:1730-1734.
- 17) Abe C, et al. Simple and rapid identification of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by immunochromatographic assay using anti-MPB64 monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol.* 1999;37:3693-3697.
- 18) Onishi H, et al. Rapid identification of tuberculosis bacteria by the anti-MPB 64 antibody based immunochromatography [in Japanese]. *J Jpn Soc Clin Microbiol.* 1999;9:228-233.
- 19) Furuhashi Y, et al. Rapid identification of the tuberculosis complex by BACTEC MGIT 960 and MPB64 immunochromatography [in Japanese]. In: Abstracts from the 12th General Meeting for the Association for the Rapid Method and Automation in Microbiology 1999;53.
- 20) Hasegawa N, et al. New simple and rapid test for culture confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* complex: a multicenter study. *J Clin Microbiol.* 2002;40:908-912.
- 21) Hasegawa M, et al. Evaluation of rapid identification method for *Mycobacterium tuberculosis* complex using the immunochromatographic slide test kit [in Japanese]. *J Jpn Assoc Infect Dis.* 2003;77:110-115.
- 22) Hirano K, et al. Mutation including IS6110 insertion in the gene encoding the MPB64 protein of Capilia TB negative *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Clin Microbiol.* 2004;42:390-392.

INQUIRES


















761-1, Kamishima, Izunokuni,
Shizuoka, 410-2325 Japan

FAX : +81-558-76-0022



Emergo Europe
 Prinsessegracht 20
 2514 AP The Hague
 The Netherlands

GLOSSARY OF SYMBOLS

	CE Marking (European directive 98/79/EC on <i>in vitro</i> diagnostic medical devices)		Authorized representative in the European Community
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device		Do not reuse
	Temperature limitation		Manufacturer/Manufactured by
	Use by YYYY-MM		Consult instructions for use
	Batch code		Caution, consult accompanying documents.
	Catalog number		Keep away from sunlight
	Contents sufficient for <n> tests		Fragile, handle with care
	Open here		

Capilia™ TB-Neo

VERWENDUNGSZWECK

Nachweis von Antigenen des *M. tuberculosis* Komplexes in einer Bakteriensuspension aus Bakterien, welche in Medium für säurefeste Bakterien ("acid-fast bacteria", AFB) oder in einem Aliquot eines Flüssigmediums für AFB kultiviert wurden (zur Unterstützung der Diagnose von Tuberkulose).

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Tuberkulose ("TB") ist eine chronische Erkrankung, die durch Infektion mit *Mycobacterium tuberculosis* hervorgerufen wird. Jährlich treten etwa 8,8 Millionen neue TB Fälle auf, wobei es in etwa 1,5 Millionen Fällen zum Tod durch TB kommt.

Die Zahl der Infektionen durch nicht-tuberkulöse Mycobakterien ("NTM") hat in den letzten Jahren zugenommen. Die Symptome von NTM können ähnlich zu den durch TB hervorgerufenen sein. Die Unterscheidung von NTM und TB Infektionen ist kritisch, da eine geeignete Behandlung erforderlich ist und viele NTM gegen die üblichen Antituberkulostatika resistent sind.

Die definitive Diagnose von TB wird durch den Nachweis von *M. tuberculosis* aus einer klinischen Probe gestellt.

Das Ergebnis einer konventionellen Nachweismethode des *M. tuberculosis* Komplexes (einschließlich des Niacin-Akkumulationstests) dauert üblicherweise 4 bis 8 Wochen.

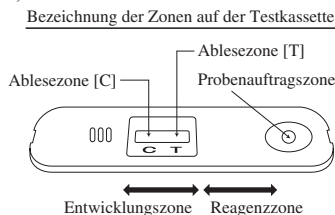
Kürzlich wurde eine Nukleinsäure-basierte Identifikationsmethode für den schnellen Nachweis des *M. tuberculosis* Komplexes entwickelt. Nichtsdestotrotz benötigt diese umständliche Handhabung spezielle Instrumente/Ausrüstung und speziell geschultes Personal.

Capilia TB-Neo verwendet eine immunochromatographische Methode, welche MPB64-Antigene nachweist, die spezifisch vom *M. tuberculosis* Komplex produziert werden.

Capilia TB-Neo weist spezifisch und mit hoher Sensitivität den *M. tuberculosis* Komplex in bakteriellen Isolaten nach und bietet ein schnelles Testergebnis bei einfacher Handhabung. Spezielle Instrumente oder Ausrüstung werden nicht benötigt.

TESTPRINZIP

Dieses Produkt besteht aus einer Testkassette mit einem Trägerstreifen, welcher aus einer Probenauftragszone, einer Reagenzzone mit dem mit kolloidalem Gold markierten anti-MPB64 monoklonalen Antikörper (Maus, im Folgenden als "mit kolloidalem Gold markierter anti-MPB64 Antikörper" bezeichnet) und einer Entwicklungszone, welche den anti-MPB64 monoklonalen Antikörper (Maus) bindet (im Folgenden als "anti-MPB64 Antikörper" bezeichnet).



Wenn eine Probe auf die Probenauftragszone der Testkassette aufgetragen wird, löst sich der mit kolloidalem Gold markierte anti-MPB64 Antikörper und bildet mit den MPB64 Antigenen der Probe einen Immunkomplex. Dieser Immunkomplex migriert über Kapillarkräfte durch die Entwicklungszone, wird durch den in der Entwicklungszone fixierten anti-MPB64 Antikörper gebunden und bildet eine lila-rote Linie von kolloidalem Gold in der Ablesezone [T].

Die lila-rote Linie zeigt visuell das Vorhandensein des MPB64 Antigens in der Probe.

Unabhängig vom Vorhandensein des MPB64 Antigens in der Probe migriert überschüssiger mit kolloidalem Gold markierter anti-MPB64 Antikörper über die Entwicklungszone und wird durch die anti-Maus Immunglobulin-Antikörper gebunden, welche in der Entwicklungszone fixiert sind und bilden hier eine lila-rote Linie in der Ablesezone [C]. Dies bedeutet, dass der mit kolloidalem Gold markierte anti-MPB64 Antikörper korrekt über die Membran migrierte.

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

REF CATB0870 Capilia TB-Neo (100 Tests)

REF CATB0871 Capilia TB-Neo (10 Tests)

Testkassetten

· Komponenten

Mit kolloidalem Gold markierter anti-MPB64 monoklonaler Antikörper (Maus)
Anti-MPB64 monoklonaler Antikörper (Maus)

SEPARAT ERHÄLTICHE MATERIALIEN - NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN

REF CATB0877 Capilia TB-Neo Extraction Buffer (20 mL/Bottle)

BENÖTIGTE MATERIALIEN - NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN

Stoppuhr, Mikropipette, Pipettenspitzen

WARNHINWEISE UND SCHUTZMASSNAHMEN

1. Schutzmaßnahmen bei der Probenbehandlung

- 1) Bakteriensuspension kultiviert auf einem Medium für AFB oder eine flüssige Bakterienkultur als Probe verwenden. Klinische Proben wie menschliche Körperflüssigkeiten, Gewebe oder bronchiale Spülflüssigkeit können nicht direkt als Proben verwendet werden.
- 2) Kultivierte Proben müssen sofort für die Testdurchführung verwendet werden. Anmerkung
- 3) Bakterien, die für die Inokulation des AFB Mediums verwendet werden, sorgfältig behandeln, da sie infektiös sein können.
- 4) Einige Proben, einschließlich Substämme von *Mycobacterium bovis* BCG unter dem *M. tuberculosis* Komplex (Copenhagen, Glaxo, Pasteur und Tice) werden als negativ interpretiert, weil von diesen Substämmen kein MPB64 gebildet wird.
- 5) Obwohl hinsichtlich der 4 *M. marinum* Stämme, die im Abschnitt "Kreuzreaktivität" beschrieben werden, keine Kreuzreaktivität beobachtet wurde, wurde eine Kreuzreaktivität mit anderen *M. marinum* Stämmen bisher nicht untersucht.
- 6) Dieses Produkt kann keine Differenzierung zwischen *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* und *M. microti* bieten, auch wenn das Testergebnis für den *M. tuberculosis* Komplex positiv ist.

7) Stämme mit einem mutierten MPB64 Gen können durch diesen Test nicht erfasst werden.

Anmerkung Positive Kulturen in Flüssigmedium und Kolonien auf Festmedium können bis zur Testdurchführung bis zu einem Jahr bei -80°C gelagert werden.

2. Warnhinweise für die Handhabung

- 1) Dieses Produkt ist ein Schnelltest für die Identifikation des *M. tuberculosis* Komplex. **Jegliche klinische Diagnose sollte durch den behandelnden Arzt unter Einbeziehen der klinischen Symptome und anderer Testergebnisse erfolgen.**
- 2) Dieses Produkt sollte nur in Übereinstimmung mit der in dieser Packungsbeilage beschriebenen Durchführung verwendet werden.
- 3) Um Verfall zu vermeiden, sollte das Produkt bei 2°C bis 30°C unter Vermeidung hoher Temperaturen, hoher Luftfeuchtigkeit und direkten Sonnenlichts, gelagert werden.
- 4) Sollte das Produkt gekühlt gelagert werden, muss es mindestens 30 Minuten vor Verwendung aus dem Kühlschrank entnommen und auf Raumtemperatur gebracht werden.
- 5) **Die Aluminiumbeutel mit den Testkassetten sollten erst direkt vor Verwendung geöffnet werden.**
- 6) Die Probenauftragszone und die Ablesezone der Testkassette nicht mit den Händen berühren.

3. Warnhinweise für die Entsorgung

- 1) Verwendete Testkassetten, Pipettenspitzen, restliche Proben und anderes Testmaterial/Hilfsmittel, welche für die Identifikation des *M. tuberculosis* Komplexes verwendet werden, können infektiös sein und sollten vor der Entsorgung autoklaviert werden (bei 121°C für mindestens 30 Minuten).
- 2) Sterilisierte Reagenzien und anderes verwendetes Material sollte entsprechend der örtlichen Gesetzgebung für die Entsorgung medizinischer Abfälle und Gewässerschutzregeln entsorgt werden.

LAGERBEDINGUNGEN

Lagerung: Bei 2°C bis 30°C lagern. **NICHT EINFRIEREN.**

Von direktem Sonnenlicht fernhalten.

Testkassette nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.

PROBENSAMMLUNG UND PRÄPARATION

1. Methoden der Probensammlung

- 1) Eine Bakteriensuspension einer Kultur Medium für die Kultivierung von AFB oder eine flüssige Bakterienkultur verwenden. Keine klinischen Proben wie menschliche Körperflüssigkeiten, Gewebe oder bronchiale Spülflüssigkeit als Proben verwenden.
- 2) Das Testlabor, in dem *M. tuberculosis* kultiviert wird, muss durch doppelte Türen von der Umgebung isoliert sein und die Handhabung von Mycobakterien muss in einer biologischen Sicherheitswerkbank erfolgen.
- 3) Bakterien, mit welchen Medien für die Kultivierung von AFB inokuliert werden, müssen sorgfältig behandelt werden, da sie infektiös sein können.
- 4) Proben mit einer Mikropipette auftragen und für jede Probe eine neue Spitze mit Filter verwenden.

2. Probenvorbereitung

Nach vollständiger geeigneter Vorbehandlung Anmerkung der klinischen Proben, wie menschliche Körperflüssigkeiten, Gewebe und bronchiale Spülflüssigkeit, das Kulturmedium für die Anzucht von AFB mit der Probe inokulieren.

Anmerkung Beispiel der Vorbehandlung von Sputum:

· N-Acetyl-L-Cystein-Natriumhydroxid (NALC-NAOH)-Methode:

Mindestens 2-faches Volumen einer NALC-NAOH Lösung in den Behälter mit dem gesammelten Sputum geben, Behälter mit einem Vortexer mischen und Behälter invertieren, um die Innenseite des Schraubverschlusses und die innere Behälterwand mit der NALC-NAOH Lösung in Kontakt zu bringen. Behälter für 15 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen und von Zeit zu Zeit leicht mit der Hand schütteln. Nach der Zugabe von kalt-sterilisiertem, 10-fachen Volumen von Phosphatpuffer-Lösung (PB, pH 6,8) in den Behälter gut vermischen und bei 3.000 x g für 20 Minuten zentrifugieren. Das Präzipitat in 1 ml PB suspendieren. 0,1 ml dieser Lösung für die Inokulation von 1% Ogawa-Medium oder 0,5 ml für die Inokulation von Flüssigmedium verwenden.

· 4% Natriumhydroxid-Methode:

Mindestens 2-faches Volumen einer 4% Natriumhydroxid-Lösung in den Behälter mit dem gesammelten Sputum geben. Die Lösung vollständig homogenisieren und sofort 0,1 ml dieser Lösung für die Inokulation von 3% Ogawa-Medium verwenden.

- 1) Im Falle der Verwendung eines **Flüssigmediums** für AFB (z.B.: Middle Brook 7H9 Broth) bei 37°C für 1-3 Wochen inkubieren, bis sich das Flüssigmedium aufgrund des Bakterienwachstums trübt. Falls das "Mycobacteria Growth Indicator Tube" (MGIT) verwendet wird, inkubieren, bis eine positive Interpretation möglich ist. In beiden Fällen ist es notwendig, das Vorhandensein von AFB durch eine säurebeständige Färbung nachzuweisen. Das Flüssigmedium im Kulturröhrchen durchmischen und das Medium als Probe verwenden.
- 2) Im Falle der Verwendung eines Festmediums für AFB (z.B.: Ogawa-Medium) bei 37°C für 2-4 Wochen bis zum Erscheinen von Bakterienkolonien inkubieren. Anschließend das Vorhandensein von AFB durch eine säurebeständige Färbung bestätigen.
 - ① 0,2 ml des Extraktionspuffers (separat erhältlich) in ein Röhrchen geben.
 - ② 1 µl (äquivalent zur Menge einer 1 mm-Durchmesser Platimpföse) einer Bakterienkolonie, die auf dem Festmedium gewachsen ist, entnehmen.
 - ③ Bakterien in der Pufferlösung suspendieren.
 - ④ Röhrchen mit einem Stopfen verschließen und mit einem Vortexer vollständig suspendieren.
 Anschließend Bakteriensuspension als Probe verwenden.

TESTDURCHFÜHRUNG

- 1) 80 µl - 100 µl der Probe auf die Probenauftragszone der Testkassette tropfen.
- 2) Nach 15 Minuten das Ergebnis in der Ablesezone der Testkassette auswerten.

Ergebnis ablesen

Probe entsprechend der Durchführung reagieren lassen und die rot-lila Linien, welche in der Ablesezone erscheinen, ablesen.

Positiv	Wenn rot-lila Linien in beiden Bereichen [T] und [C] der Ablesezone (zwei Linien) erscheinen, ist das Ergebnis positiv. Wenn eine sehr schwache rot-lila Linie im Bereich [T] der Ablesezone erscheint, wird das Ergebnis auch als positiv gewertet.
Negativ	Wenn keine rot-lila Linie im Bereich [T] der Ablesezone erscheint und nur eine rot-lila Linie im Bereich [C] der Ablesezone (eine Linie) erscheint, ist das Ergebnis als Negativ zu interpretieren. Wenn die rot-lila Linie im Bereich [C] der Ablesezone schwach aber visuell nachweisbar ist, ist die chromatographische Entwicklung normal abgelaufen.
Ungültig/ Test Wiederholung	Wenn keine rot-lila Linie im Bereich [C] der Ablesezone vorhanden ist, kann es Probleme mit der Testdurchführung oder der Qualität der Reagenzien geben. Der Test sollte mit einer neuen Testkassette wiederholt werden.

Wenn die Linie, an welchem Punkt auch immer, in eine der Sektionen der Ablesezone an Intensität abnimmt, ist der Test als valide zu bewerten. (Die Grenzen zwischen den Bereichen der Ablesezone sind durch Einkerbungen auf der Ablesefensterrahmen markiert.)

(Anmerkung)

1. Wenn im Bereich [C] der Ablesezone keine Linie erscheint, gab es Probleme bei der Testdurchführung oder mit der Qualität der Reagenzien. In diesem Fall Test mit einer neuen Testkassette wiederholen.
2. Testkassette nur innerhalb der Beurteilungszeit (15 Minuten) ablesen, da sich das Ergebnis durch Austrocknen etc. verändern kann.
3. Bei einem Ergebnis, das mit diesem Produkt als positiv interpretiert wurde, ist das Vorhandensein des *M. tuberculosis* Komplexes hochwahrscheinlich. Nichtsdestotrotz kann eine durchaus mögliche kombinierte Infektion von *M. tuberculosis* und nicht-tuberkulösen AFB und eine Infektion mit nicht-tuberkulösen AFB nicht ausgeschlossen werden.
4. Probenauftragszone und Ablesezone nicht mit den Händen berühren.
5. Proben mit einer Mikropipette auftragen und für jede Probe eine neue Spitze mit Filter verwenden.
6. Ein negatives Testergebnis kann aufgrund der Unfähigkeit des Nachweises des *M. tuberculosis* Komplexes entstehen, wenn die MPB64 Konzentration in der Probe unterhalb der Nachweisgrenze liegt, oder eine Mutation im MPB64 Gen des *M. tuberculosis* Komplexes auftritt⁽²⁾. Deshalb schließt ein negatives Testergebnis eine mögliche Infektion mit *M. tuberculosis* nicht aus.

Jede klinische Diagnose muss durch den behandelnden Arzt in Kombination der klinischen Symptome und anderer Testergebnisse gefällt werden.

EINSCHRÄNKUNGEN

- 1) Da Kulturen AFB u.a. enthalten können, muss die in dieser Packungsbeilage beschriebene Durchführung in einer biologischen Sicherheitswerkbank erfolgen. Benutzte Testkassetten müssen mit entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden, da sie infektiös sein können.
- 2) Die Testkassette sollte sofort nach dem Öffnen der Verpackung verwendet werden. Wenn Feuchtigkeit absorbiert wird, lässt die Qualität des Tests nach und ein korrektes Testergebnis kann nicht erzielt werden.
- 3) Jede klinische Diagnose muss durch den behandelnden Arzt in Kombination der klinischen Symptome und anderer Testergebnisse gefällt werden.
- 4) Produkt nur entsprechend der in dieser Packungsbeilage beschriebenen Durchführung und Vorsichtsmaßnahmen verwenden. Für Ergebnisse, die durch veränderte Durchführung oder andere Verwendungszwecke als in dieser Packungsbeilage beschrieben erzielt wurden, kann nicht gehaftet werden.

LEISTUNGSDATEN

1. Korrelation der Messwerte

1) WHO Stämme *M. tuberculosis*

		Kontrollprodukt		
		Positiv	Negativ	Total
Dieses Produkt	Positiv	70	0	70
	Negativ	0	0	0
	Total	70	0	70

Präzision : 100% (70/70)
Sensitivität : 100% (70/70)
Spezifität : - (0/0)

Wie die Daten oben zeigen, konnten mit allen 70 WHO Stämmen von *M. tuberculosis*, mit denen positive Ergebnisse mit einem Kontrollprodukt erzielt wurden, auch positive Ergebnisse gezeigt werden.

2) Klinische Isolate von *M. tuberculosis*

		Kontrollprodukt		
		Positiv	Negativ	Total
Dieses Produkt	Positiv	46	0	46
	Negativ	0	5	5
	Total	46	5	51

Präzision : 100% (51/51)
Sensitivität : 100% (46/46)
Spezifität : 100% (5/5)

Wie die Daten oben zeigen, konnten mit allen 46 klinischen Isolatoren von *M. tuberculosis*, mit denen positive Ergebnisse mit einem Kontrollprodukt erzielt wurden, auch positive Ergebnisse gezeigt werden.

Anmerkung Eine Genanalyse für 5 klinische Isolate von *M. tuberculosis*, für die ein negatives Ergebnis für das Kontrollprodukt und dieses Produkt erhalten wurde, ergab, dass eine Mutation in der Basensequenz des MPB64 Gens vorhanden war, sodass die Expression des MPB64 Proteins unvollständig war.

2. Sensitivität (Nachweisgrenze)

Die minimale Nachweisgrenze liegt bei $1,2 \times 10^6$ CFU/ml.

3. Reaktivität

1) Stämme mit Produktion von MPB64

Eine Reaktion wurde mit folgenden 8 Stämmen beobachtet.

- | | | |
|------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| <i>M. tuberculosis</i> H37Rv | <i>M. tuberculosis</i> H37Ra | <i>M. africanum</i> |
| <i>M. bovis</i> deer | <i>M. microti</i> | <i>M. bovis</i> BCG-Tokyo |
| <i>M. bovis</i> BCG-Russia | <i>M. bovis</i> BCG-Moreau | |

2) Stämme ohne Produktion von MPB64

Keine Reaktion wurde mit folgenden 2 Stämmen beobachtet.

- | | |
|-----------------------------|--------------------------|
| <i>M. bovis</i> BCG-Pasteur | <i>M. bovis</i> BCG-Tice |
|-----------------------------|--------------------------|

4. Kreuzreaktivität

Die Reaktivität wurde mit den folgenden non-tuberkulösen Mycobakterien überprüft und es wurde bei keinem der genannten Stämme eine Kreuzreaktivität beobachtet.

- | | | |
|-----------------------------|----------------------------|-----------------------|
| <i>M. kansasii</i> | <i>M. simiae</i> | <i>M. asiaticum</i> |
| <i>M. scrofulaceum</i> | <i>M. goodii</i> | <i>M. avium</i> |
| <i>M. intracellulare</i> | <i>M. nonchromogenicum</i> | <i>M. szulgai</i> |
| <i>M. terrae</i> | <i>M. xenopi</i> | <i>M. ulcerans</i> |
| <i>M. fortuitum</i> | <i>M. chelonae</i> | <i>M. abscessus</i> |
| <i>M. smegmatis</i> | <i>M. vaccae</i> | <i>M. flavescens</i> |
| <i>M. marinum</i> JATA22-01 | <i>M. marinum</i> 351-2 | <i>M. marinum</i> 329 |
| <i>M. marinum</i> 60 | | |

INTERFERIERENDE SUBSTANZEN

Für dieses Produkt wurden klinische Tests mit Kulturen aus Sputum, bronchialer Spülflüssigkeit, Pleuraerguss, Magenflüssigkeit und eitrige Flüssigkeiten als Proben durchgeführt. Bisher wurde keine Interferenz der Ergebnisse durch Herkunft der klinischen Proben beobachtet. Zusätzlich wurden folgende Medien zur Anzucht von AFB verwendet und auch hier wurde keine Interferenz durch die Medien beobachtet:

- Ei-basierte Medien: 3% Ogawa Medium, 2% Ogawa Medium, 1% Ogawa Medium, Löwenstein-Jensen (LJ) Medium
- Agarmedien: Middle Brook 7H10 Agarmedium, Middle Brook 7H11 Agarmedium
- Flüssigmedien: Middle Brook 7H9 Flüssigmedium, Dubos Flüssigmedium, Kirchnermedium, Sauton's Medium

Wie oben bereits erklärt wurde bisher keine Auswirkungen der unterschiedlichen klinischen Proben oder Kulturmedien festgestellt. Nichtsdestotrotz ist nicht bekannt, ob jegliche andere Substanzen in Proben Effekte auf das Testergebnis haben könnten.

REFERENZEN

- 1) Mori T. Current status of tuberculosis [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:491-498.
- 2) Shimouchi A. Tuberculosis overseas [in Japanese]. *Clin Microbiol.* 1997;24:9-14.
- 3) Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Health Service Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare. *Statistics of Tuberculosis in 2004* [in Japanese]. Japan Anti-Tuberculosis Association; 2004.
- 4) Koyama A, et al. *Non-tuberculous Mycobacterium Infection* [in Japanese]. Japan Anti-Tuberculosis Association; 1998. JATA Books No.11.
- 5) Okada J. Acid fast bacillus [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1996;40:589-594.
- 6) Kanai M, et al. Clinical bacterial test. In: Kanai M, et al. *Kanai's Manual of Clinical Laboratory Medicine*, 30th ed [in Japanese]. Kanehara & Co; 1993.
- 7) Saito H, Abe C, et al. *Acid Fast Bacillus Tests* [in Japanese]. Ishiyaku Publishers; 1997.
- 8) Nagasawa M, et al. Identification of the *M. tuberculosis* complex and *M. avium* complex by chemiluminescence labeled DNA probe [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1992;36:197-200.
- 9) Kusaba K, et al. Nucleic acid identification from culture isolation [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:527-531.
- 10) Goto M. Nucleic acid identification from direct clinical specimen [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:533-539.
- 11) Abe C. Application of nucleic acid amplification to detection of tuberculosis bacteria and diagnosis [in Japanese]. *Exp Med.* 1887;15:805-807.
- 12) Harboe M, et al. Properties of proteins MPB64, MPB70, and MPB80 of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Infect Immun.* 1986;52:293-302.
- 13) Oettinger T, et al. Cloning and B-cell-epitope mapping of MPT64 from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Infect Immun.* 1994;62:2058-2064.
- 14) Yamaguchi R, et al. Cloning and characterization of the gene for immunogenic protein MPB64 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1986;57:283-288.
- 15) Andersen AB, et al. MPB64 possesses "tuberculosis-complex"-specific B- and T-cell epitopes. *Scand J Immunol.* 1991;34:365-372.
- 16) Li H, et al. Evidence for absence of the MPB64 gene in some strains of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1993;61:1730-1734.
- 17) Abe C, et al. Simple and rapid identification of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by immunochromatographic assay using anti-MPB64 monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol.* 1999;37:3693-3697.
- 18) Onishi H, et al. Rapid identification of tuberculosis bacteria by the anti-MPB64 antibody based immunochromatography [in Japanese]. *J Jpn Soc Clin Microbiol.* 1999;9:228-233.
- 19) Furuhashi Y, et al. Rapid identification of the tuberculosis complex by BACTEC MGIT 960 and MPB64 immunochromatography [in Japanese]. In: Abstracts from the 12th General Meeting for the Association for the Rapid Method and Automation in Microbiology 1999;53.
- 20) Hasegawa N, et al. New simple and rapid test for culture confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* complex: a multicenter study. *J Clin Microbiol.* 2002;40:908-912.
- 21) Hasegawa M, et al. Evaluation of rapid identification method for *Mycobacterium tuberculosis* complex using the immunochromatographic slide test kit [in Japanese]. *J Jpn Assoc Infect Dis.* 2003;77:110-115.
- 22) Hirano K, et al. Mutation including IS6110 insertion in the gene encoding the MPB64 protein of Capilia TB negative *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Clin Microbiol.* 2004;42:390-392.

ANFRAGEN







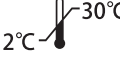










761-1, Kamishima, Izunokuni, Shizuoka, 410-2325 Japan

FAX : +81-558-76-0022

EC/REP Emergo Europe

Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

ÜBERSICHT DER SYMBOLE

	CE Kennzeichnung (Europäische Direktive 98/79/EC für <i>in vitro</i> diagnostische Medizinprodukte)		Autorisierter Vertreter in der Europäischen Union
	<i>In vitro</i> diagnostisches Medizinprodukt		Nicht wiederverwenden
	Temperaturbereich 2°C - 30°C		Hersteller
	Verwendbar bis JJJJ-MM		Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer		Achtung, begleitende Dokumente beachten.
	Katalognummer		Von Sonnenlicht fernhalten
	Inhalt ausreichend für <n> Tests		Zerbrechlich, mit Vorsicht behandeln
	Hier öffnen		

Capilia™ TB-Neo

USO PREVISTO

Para detectar antígenos de *M. tuberculosis* complex en una suspensión de bacterias cultivadas en el medio para las bacterias ácido-alcohol resistentes (AFB) o en una parte del medio líquido para AFB en el que se han cultivado las bacterias (para ayudar en el diagnóstico de la tuberculosis).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La tuberculosis ("TB") es una enfermedad crónica causada por la infección con *Mycobacterium tuberculosis*. El número anual de nuevos casos de TB es de alrededor de 8,8 millones, y el número de muertes por TB es de alrededor de 1,5 millones.

El número de infecciones por micobacterias no tuberculosas ("NTM") ha ido aumentando en los últimos años. Los síntomas de NTM pueden ser similares a los causados por la TB. Es fundamental distinguir las infecciones de NTM de las de TB para determinar el tratamiento adecuado debido a que muchos NTM son resistentes a los fármacos antituberculosos ordinarios.

El diagnóstico definitivo contra la TB se realiza mediante la detección de *M. tuberculosis* a partir de una muestra clínica.

Los resultados para el método de detección convencional de *M. tuberculosis* complex (incluyendo la prueba de acumulación de niacina) por lo general requieren de 4 a 8 semanas.

Recientemente, se ha desarrollado un método de identificación basado en la sonda de ácido nucleico como una herramienta para la detección rápida de *M. tuberculosis* complex. Sin embargo, requiere procedimientos de manipulación engorrosos, instrumentos/equipos especiales y operarios cualificados.

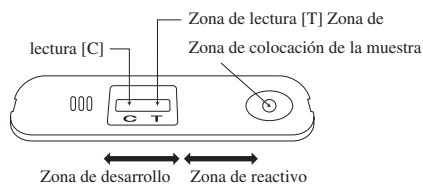
Capilia TB-Neo adopta un método de inmunocromatografía que puede detectar los antígenos MPB64 producidos específicamente por *M. tuberculosis* complex.

Capilia TB-Neo es capaz de detectar *M. tuberculosis* complex en aislados bacterianos específicamente y con un alto grado de sensibilidad, y proporciona resultados de pruebas rápidas mediante una operación simple. No se requieren instrumentos o equipos especiales.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Este producto consiste en una placa de ensayo con una tira portadora compuesta de una zona de colocación de la muestra, una zona de reactivo que incluye un anticuerpo monoclonal marcado con oro coloidal anti MPB64 (ratón) (en lo sucesivo referido como "anticuerpo marcado con oro coloidal anti MPB64") y una zona de desarrollo que fija el anticuerpo monoclonal anti MPB64 (ratón) (en lo sucesivo denominado "anticuerpo anti MPB64").

Nombres de cada zona de la placa de ensayo



Al colocar una muestra en la zona de colocación de la muestra de la placa de ensayo, el anticuerpo marcado con oro coloidal anti MPB64 se disuelve y forma un complejo inmune con antígenos MPB64 en la muestra. Este complejo inmune migra a través de la zona de desarrollo mediante acción capilar, llegando a ser capturado por el anticuerpo anti MPB64 fijo en la zona de desarrollo, y forma una línea púrpura roja de oro coloidal en la zona de lectura [T].

La línea púrpura roja muestra visualmente la existencia de antígenos MPB64 en la muestra.

Independientemente de la existencia de antígenos MPB64 en la muestra, el exceso de anticuerpo marcado con oro coloidal anti MPB64 migra a través de la zona de desarrollo, acabando capturado por los anticuerpos de inmunoglobulina anti ratón fijos en la zona de desarrollo, y formando una línea púrpura roja en la zona de lectura [C]. Esto significa que el anticuerpo marcado con oro coloidal anti MPB64 ha migrado normalmente.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

[REF] CATB0870 Capilia TB-Neo (100 Tests)

[REF] CATB0871 Capilia TB-Neo (10 Tests)

Placas de ensayo

Componentes

Anticuerpo monoclonal marcado con oro coloidal anti MPB64 (ratón) Anticuerpo monoclonal anti MPB64 (ratón)

MATERIALES NECESARIOS VENDIDOS POR SEPARADO

[REF] CATB0877 Capilia TB-Neo Extraction Buffer (20 mL/Bottle)

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Temporizador, micropipeta, puntas de pipeta

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Precauciones al manipular muestras

- Utilizar una suspensión de bacterias cultivadas en el medio para AFB o un líquido de cultivo bacteriano como muestra. Las muestras clínicas tales como el fluido corporal humano, tejido o fluido de lavado bronquial no se pueden utilizar directamente como muestras.
- Las muestras cultivadas deben usarse inmediatamente para las pruebas. ^{Nota}
- Las bacterias inoculadas en los medios para AFB deben ser cuidadosamente manejadas ya que pueden causar infecciones.
- Algunas muestras que incluyen subcepas de *Mycobacterium bovis* BCG entre la *M. tuberculosis* complex (Copenhagen, Glaxo, Pasteur y Tice) se interpretan como negativas, ya que no se produce MPB64 a partir de estas subcepas.
- Aunque no se ha observado ninguna reactividad cruzada con 4 cepas de *M. marinum*, descrito en la sección "Reactividad cruzada", todavía no se ha estudiado la reactividad cruzada con otras cepas de *M. marinum*.
- Este producto es incapaz de diferenciar *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* y *M. microti*, del resto incluso si los resultados de la prueba *M. tuberculosis* complex son positivos.
- Este producto podría no detectar las cepas con un gen MPB64 mutado.

^{Nota} Los cultivos positivos en medios líquidos y colonias en medios sólidos pueden probarse durante tanto tiempo como un año al almacenarse a -80°C para la prueba.

2. Precauciones durante el uso

- Este producto es una prueba rápida para la identificación de *M. tuberculosis* complex. **Cualquier diagnóstico clínico debe realizarse con la presencia de un médico, en combinación con los síntomas clínicos y otros resultados de la prueba.**
- Este producto debe usarse en conformidad con el procedimiento establecido en este prospecto.

3) Para evitar el deterioro, este producto debe almacenarse entre 2°C y 30°C , evitando altas temperaturas, alta humedad y la luz directa del sol.

4) Si este producto ha sido refrigerado, debe ser retirado de la nevera al menos 30 minutos antes del uso para aclimatarse a la temperatura ambiente.

5) **Las bolsas de aluminio que contienen las placas de ensayo no deben abrirse hasta que estén a punto de ser utilizadas.**

6) No se debe tocar con las manos la zona de colocación de la muestra ni la zona de lectura de la placa de ensayo.

3. Precauciones durante el desecho

1) Debido a que las placas de ensayo, las puntas de las pipetas, las muestras restantes y otros materiales/dispositivos usados para la identificación de *M. tuberculosis* complex podrían causar infecciones, deben esterilizarse en autoclave (a 121°C , durante más de 30 minutos) antes del desecho.

2) Al desechar reactivos esterilizados usados u otros materiales de ensayo, deben tratarse en conformidad con las normas y regulaciones relacionadas con el desecho de residuos médicos y el control de contaminación del agua.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Almacenamiento: Conservar entre 2°C y 30°C .

NO CONGELAR.

Mantener alejado de la luz directa del sol.

No usar la placa de ensayo después de la fecha de caducidad.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Métodos de recogida de muestras

1) Utilizar una suspensión de bacterias cultivadas en el medio para AFB o un líquido de cultivo bacteriano como muestra. Las muestras clínicas tales como el fluido corporal humano, tejido o fluido de lavado bronquial no se pueden utilizar directamente como muestras.

2) El laboratorio de pruebas que maneje *M. tuberculosis* debe estar aislado del espacio exterior por puertas dobles y las micobacterias deben manejarse en una cabina de seguridad biológica.

3) Las bacterias inoculadas en los medios para AFB deben ser cuidadosamente manejadas ya que pueden causar infecciones.

4) Añadir las muestras con una micropipeta y usar una nueva punta con un filtro para añadir cada muestra.

2. Preparación de la muestra

Después de completar el tratamiento previo adecuado ^{Nota} de muestras clínicas tales como fluidos corporales humanos, tejido y líquido de lavado bronquial, inocular la muestra en un medio de cultivo para AFB.

^{Nota} Ejemplo de pretratamiento de esputo:

• Método N-acetil-cisteína-hidróxido de sodio (NALC-NaOH):

Añadir al menos un volumen 2 veces mayor de solución de NALC-NaOH al contenedor que contiene el esputo recogido, remover el contenedor con un mezclador de vórtice e invertir el contenedor para exponer el interior del tapón de rosca y la pared interior del tubo a la solución de NALC-NaOH. Dejar reposar el contenedor a temperatura ambiente durante 15 minutos y remover intermitente y suavemente de forma manual. Después de añadir un volumen en frío esterilizado de 10 veces de solución de tampón fosfato (PB) (pH 6,8) al contenedor y mezclar, centrifugar $3.000 \times g$ durante 20 minutos. Suspender el precipitado en 1 ml de solución de PB. A continuación, inocular 0,1 ml de la suspensión en un medio Ogawa 1 % o inocular 0,5 ml de la misma en un medio líquido.

• Método de hidróxido de sodio al 4 %:

Añadir al menos un volumen 2 veces mayor de solución de hidróxido de sodio al 4 % en el contenedor que contiene el esputo recogido, homogeneizar completamente la mezcla e inocular inmediatamente 0,1 ml de la mezcla en un medio Ogawa 3 %.

- En el caso de utilizar un **medio líquido** para AFB (Ejemplo: Middlebrook 7H9 Broth) Incubar a 37°C durante 1 a 3 semanas hasta que el medio líquido se vuelva turbio debido al crecimiento de bacterias. En el caso de usar un Tubo Indicador de Crecimiento de Micobacterias (MGIT), incubar hasta que sea posible una interpretación positiva. En ambos casos, es necesario confirmar la presencia de AFB por tinción ácido-alcohol resistente. Agitar el medio líquido en el tubo de cultivo y utilizar el ácido como muestra.
- En el caso de utilizar un **medio sólido** para AFB (Ejemplo: medio Ogawa) Incubar a 37°C durante 2 a 4 semanas hasta que el crecimiento de colonias bacterianas se confirme en el medio sólido, y luego confirmar la presencia de AFB por tinción ácido-alcohol resistente.

- 1) Dispensar 0,2 ml de tampón de extracción (se vende por separado) en un tubo.
- 2) Retirar 1 μl (equivalente a la cantidad de un microbucle de platino de 1 mm de diámetro) de la colonia bacteriana que ha crecido en el medio sólido.
- 3) Suspender las bacterias recogidas en el tampón en el tubo.
- 4) Cerrar el tubo con un tapón y suspender completamente con un mezclador de vórtice. A continuación, usar la suspensión bacteriana para las muestras.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

- Añadir 80–100 μl de la muestra a la zona de colocación de la muestra de la placa de ensayo.
- Observar la zona de lectura de la placa de ensayo después de 15 minutos e interpretar el resultado.

Lectura de los resultados

Permitir que las muestras reaccionen de acuerdo con el procedimiento y leer las líneas púrpuras rojas que aparecen en la zona de lectura.

Positivo	
	Quando las líneas púrpuras rojas se ven en [T] y [C] en la zona de lectura (dos líneas), el resultado se lee como positivo. Cuando una línea púrpura roja muy tenue se ve en [T] en la zona de lectura, el resultado también se interpreta como positivo.
Negativo	
	Quando no hay una línea púrpura roja en [T] en la zona de lectura y solamente se ve una línea púrpura roja en [C] en la zona de lectura (una línea), el resultado se lee como negativo. Cuando una línea púrpura roja en [C] en la zona de lectura es tenue pero visualmente reconocible, el desarrollo cromatográfico se ha producido con normalidad.
Repetición de la prueba	
	Si no se visualiza ninguna línea púrpura roja en [C] en la zona de lectura, podría haber algún problema con el procedimiento de la prueba o la calidad de los reactivos. La prueba debe realizarse de nuevo utilizando otra placa de ensayo.

Si la línea se encuentra dentro de cualquiera de las secciones de la zona de lectura, sin importar dónde, la prueba se considera válida. (Los límites entre las secciones de la zona de lectura se muestran por las mellas en el marco de la ventana de lectura).

(Nota)

- Si no se visualiza ninguna línea en [C] en la zona de lectura, podría haber algún problema con el procedimiento de la prueba o la calidad de los reactivos. Por lo tanto, la prueba debe realizarse de nuevo utilizando otra placa de ensayo.
- No usar la placa de ensayo para un resultado de lectura más allá del tiempo de juicio (15 minutos), ya que podría cambiar debido al secado, etc.

- Si un resultado de prueba usando este producto se interpreta como positivo, la presencia de *M. tuberculosis* complex en la muestra es muy probable. Sin embargo, existe la posibilidad de infecciones combinadas de *M. tuberculosis* y AFB no tuberculosa, y una infección con AFB no tuberculosa no puede ser excluida.
- No se debe tocar con las manos la zona de colocación de la muestra ni la zona de lectura de la placa de ensayo.
- Añadir las muestras con una micropipeta y usar una nueva punta con un filtro para añadir cada muestra.
- Incluso si un resultado de prueba usando este producto se interpreta como negativo, puede ser debido a su incapacidad para detectar *M. tuberculosis* complex cuando la concentración de MPB64 en la muestra está por debajo del límite de detección o surge una mutación en el gen MPB64 de *M. tuberculosis* complex.⁽²²⁾ Por lo tanto, un resultado negativo no excluye necesariamente la posibilidad de infección con *M. tuberculosis*.

Cualquier diagnóstico clínico debe realizarse con la presencia de un médico, en combinación con los síntomas clínicos y otros resultados de la prueba.

LIMITACIONES

- Como se emplean cultivos que contienen AFB y así sucesivamente para las pruebas con este producto, la operación descrita en este prospecto debe llevarse a cabo en una cabina de seguridad biológica, y las placas de ensayo utilizadas debe manejarse con las precauciones adecuadas, ya que pueden causar infecciones.
- La placa de ensayo debe utilizarse inmediatamente después de abrir el envase. Cuando absorbe la humedad, la calidad se deteriora y no se podrá obtener un resultado preciso.
- Cualquier diagnóstico clínico debe realizarse con la presencia de un médico, en combinación con los síntomas clínicos y otros resultados de la prueba.
- Use este producto siguiendo el método de uso y las precauciones que se describen en este prospecto. No podemos garantizar los resultados obtenidos a partir de cualquier otra operación y para ningún otro propósito no descrito en el prospecto.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

1. Datos de correlación

1) Cepas de la OMS de *M. tuberculosis*

		Producto de control		
		Positivo	Negativo	Total
Este producto	Positivo	70	0	70
	Negativo	0	0	0
	Total	70	0	70

Sensibilidad : 100% (70/70)

Especificidad : - (0/0)

Precisión : 100% (70/70)

Como muestran los datos anteriores, se obtuvieron también resultados positivos con este producto para todas las 70 cepas de la OMS de *M. tuberculosis* para las que se obtuvieron resultados positivos con el producto de control.

2) Aislado clínico de *M. tuberculosis*

		Producto de control		
		Positivo	Negativo	Total
Este producto	Positivo	46	0	46
	Negativo	0	5 ^{Nota}	5
	Total	46	5	51

Sensibilidad : 100% (46/46)

Especificidad : 100% (5/5)

Precisión : 100% (51/51)

Como muestran los datos anteriores, se obtuvieron también resultados positivos con este producto para todos los 46 aislados clínicos de *M. tuberculosis* para los que se obtuvieron resultados positivos con el producto de control.

^{Nota} Un análisis de gen de 5 aislados clínicos de *M. tuberculosis* para los que se obtuvieron resultados negativos mediante el producto de control, así como mediante este producto, reveló que se produjo una mutación en la secuencia base del gen MPB64, de modo que dichos aislados eran mutantes en los cuales la expresión de la proteína MPB64 era incompleta.

2. Sensibilidad (límite de detección)

El límite de detección mínimo es de $1,2 \times 10^6$ CFU/ml.

3. Reactividad

1) Cepas que demuestran la producción de MPB64

Se observó una reacción con las 8 cepas siguientes.

<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	<i>M. tuberculosis</i> H37Ra	<i>M. africanus</i>
<i>M. bovis deer</i>	<i>M. microti</i>	<i>M. bovis</i> BCG-Tokyo
<i>M. bovis</i> BCG-Russia	<i>M. bovis</i> BCG-Moreau	

2) Cepas que demuestran la no producción de MPB64

No se observó una reacción con las 2 cepas siguientes.

<i>M. bovis</i> BCG-Pasteur	<i>M. bovis</i> BCG-Tice
-----------------------------	--------------------------

4. Reactividad cruzada

Se comprobó reactividad con las siguientes micobacterias no tuberculosas y se confirmó la ausencia de reactividad cruzada con todas ellas.

<i>M. kansasii</i>	<i>M. simiae</i>	<i>M. asiaticum</i>
<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. gordonae</i>	<i>M. avium</i>
<i>M. intracellulare</i>	<i>M. nonchromogenicum</i>	<i>M. szulgai</i>
<i>M. terrae</i>	<i>M. xenopi</i>	<i>M. ulcerans</i>
<i>M. fortuitum</i>	<i>M. chelonae</i>	<i>M. abscessus</i>
<i>M. smegmatis</i>	<i>M. vaccae</i>	<i>M. flavescens</i>
<i>M. marinum</i> JATA2-01	<i>M. marinum</i> 351-2	<i>M. marinum</i> 329
<i>M. marinum</i> 60		

SUSTANCIAS QUE CAUSAN INTERFERENCIAS

Se han llevado a cabo pruebas clínicas para este producto utilizando cultivos de esputo, fluido de lavado bronquial, derrame pleural, jugo gástrico y fluido purulento como muestras, y no se ha observado hasta el momento ninguna interferencia en los resultados de la prueba mediante las muestras clínicas. Además, hemos utilizado los siguientes medios para AFB, y no se observó interferencia en los resultados de las pruebas con los medios:

- Medio a base de huevo: medio Ogawa 3 %, medio Ogawa 2 %, medio Ogawa 1 %, medios Lowenstein-Jensen (LJ)
- Medio agar: Medio agar MiddleBrook 7H10, medio agar MiddleBrook 7H11
- Medio líquido: Medio líquido MiddleBrook 7H9, medio líquido Dubos, medio Kirchner, medio de Sauton

Como se explicó anteriormente, no se ha encontrado hasta el momento ningún impacto de los diferentes tipos de muestras clínicas o medios de cultivo en el estudio. Sin embargo, no se sabe si cualesquiera otras sustancias presentes en las muestras pueden afectar a los resultados.

REFERENCES

- Mori T. Current status of tuberculosis [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:491-498.
- Shimouchi A. Tuberculosis in overseas [in Japanese]. *Clin Microbiol.* 1997;24:9-14.
- Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Health Service Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare. *Statistics of Tuberculosis in 2004* [in Japanese]. Japan Anti-Tuberculosis Association;2004.
- Koyama A, et al. *Non-tuberculous Mycobacterium Infection* [in Japanese]. Japan Anti-Tuberculosis Association;1998. JATA Books No. 11.
- Okada J. Acid fast bacillus [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1996;40:589-594.
- Kanai M, et al. Clinical bacterial test. In: Kanai M, et al. *Kanai's Manual of Clinical Laboratory Medicine*, 30th ed [in Japanese]. Kanehara & Co;1993.
- Saito H, Abe C, et al. *Acid Fast Bacillus Tests* [in Japanese]. Ishiyaku Publishers;1997.
- Nagasawa M, et al. Identification of the *M. tuberculosis* complex and *M. avium* complex by chemiluminescence labeled DNA probe [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1992;36:197-200.
- Kusaba K, et al. Nucleic acid identification from culture isolation [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:527-531.
- Goto M. Nucleic acid identification from direct clinical specimen [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:533-539.
- Abe C. Application of nucleic acid amplification to detection of tuberculosis bacteria and diagnosis [in Japanese]. *Exp Med.* 1887;15:805-807.
- Harboe M, et al. Properties of proteins MPB64, MPB70, and MPB80 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1986;52:293-302.
- Oettinger T, et al. Cloning and B-cell-epitope mapping of MPT64 from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Infect Immun.* 1994;62:2058-2064.
- Yamaguchi R, et al. Cloning and characterization of the gene for immunogenic protein MPB64 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1986;57:283-288.
- Andersen AB, et al. MPB64 possesses "tuberculosis-complex"-specific B-and T-cell epitopes. *Scand J Immunol.* 1991;34:365-372.
- Li H, et al. Evidence for absence of the MPB64 gene in some substrains of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1993;61:1730-1734.
- Abe C, et al. Simple and rapid identification of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by immunochromatographic assay using anti-MPB64 monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol.* 1999;37:3693-3697.
- Onishi H, et al. Rapid identification of tuberculosis bacteria by the anti-MPB 64 antibody based immunochromatography [in Japanese]. *J Jpn Soc Clin Microbiol.* 1999;9:228-233.
- Furuhata Y, et al. Rapid identification of the tuberculosis complex by BACTEC MGIT 960 and MPB64 immunochromatography [in Japanese]. In: Abstracts from the 12th General Meeting for the Association for the Rapid Method and Automation in Microbiology 1999;53.
- Hasegawa N, et al. New simple and rapid test for culture confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* complex: a multicenter study. *J Clin Microbiol.* 2002;40:908-912.
- Hasegawa M, et al. Evaluation of rapid identification method for *Mycobacterium tuberculosis* complex using the immunochromatographic slide test kit [in Japanese]. *J Jpn Assoc Infect Dis.* 2003;77:110-115.
- Hirano K, et al. Mutation including IS6110 insertion in the gene encoding the MPB64 protein of Capilia TB negative *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Clin Microbiol.* 2004;42:390-392.
















CONSULTAS


761-1, Kamishima, Izunokuni,
Shizuoka, 410-2325 Japan

FAX : +81-558-76-0022

ECREP Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

	Marcado CE (Directiva Europea 98/79/CE sobre dispositivos médicos de diagnóstico in vitro)		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Dispositivo médico diagnóstico in vitro		No reutilizar
	Límite de temperatura		Fabricante/Fabricado por
	Usar antes de AAAA-MM		Consultar las instrucciones de uso
	Código de lote		Atención, consultar los documentos adjuntos.
	Número de catálogo		Mantener alejado de la luz solar
	Contenido suficiente para <n> pruebas		Frágil, manipular con cuidado
	Abrir aquí		

Capilia™ TB-Neo

UTILISATION PRÉVUE

Pour détecter des antigènes complexes *M. tuberculosis* dans une suspension bactérienne de culture dans un milieu de bactéries acido-résistantes ou dans une partie du milieu liquide pour AFB dans lequel les bactéries ont été cultivées (pour faciliter le diagnostic de la tuberculose).

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

La tuberculose (« TB ») est une maladie chronique provoquée par une infection due au *Mycobacterium tuberculosis*. Le nombre annuel de nouveaux cas de TB est d'environ 8,8 millions, et le nombre de décès dus à la TB est d'environ 1,5 million.

Le nombre d'infection par mycobactéries non tuberculeuses (« MNT ») s'est accru au cours des dernières années. Les symptômes MNT peuvent être similaires à ceux provoqués par la TB. Il est essentiel de distinguer les infections MNT des TB pour déterminer le traitement approprié car de nombreux MNT sont résistants aux médicaments anti-tuberculeux ordinaires.

Le diagnostic définitif de TB est effectué en détectant le *M. tuberculosis* à partir d'un échantillon clinique.

Les résultats pour la méthode de détection conventionnelle du *M. tuberculosis* complexe (y compris le test d'accumulation de niacine) demandent généralement 4 à 8 semaines.

Récemment, une méthode d'identification par utilisation de sondes d'acides nucléiques a été développée comme outil de détection rapide du *M. tuberculosis* complexe. Toutefois, elle nécessite des procédures de manipulation lourdes, des instruments/dispositifs spécifiques et des opérateurs qualifiés.

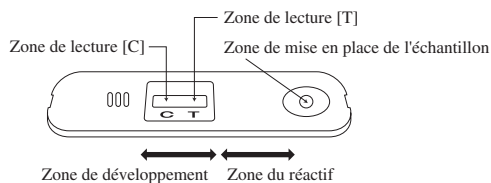
Capilia TB-Neo adopte une méthode immuno-chromatographique, ce qui permet de détecter les antigènes MPB64 spécifiquement produits par le *M. tuberculosis* complexe.

Capilia TB-Neo est capable de détecter le *M. tuberculosis* complexe dans des bactéries spécifiquement isolées et avec un degré élevé de sensibilité, et d'obtenir des résultats de test rapides en une seule opération. Aucun instrument ou équipement spécifique n'est nécessaire.

PRINCIPE DU TEST

Ce produit est composé d'une plaque de test avec une bande porteuse composé d'une zone de mise en place d'échantillon, d'une zone de réactif comprenant un anticorps monoclonal anti-MPB64 marqué à l'or colloïdal (souris) (ci-après appelé « anticorps anti-MPB64 marqué à l'or colloïdal ») et une zone de développement qui fixe l'anticorps anti-MPB64 marqué à l'or colloïdal (souris) (ci-après appelé « anticorps anti-MPB64 »).

Noms de chaque zone de la plaque de test



Lorsqu'un échantillon est placé sur la zone de mise en place de l'échantillon de la plaque de test, l'anticorps anti-MPB64 marqué à l'or colloïdal se dissout et forme un complexe immun avec les antigènes MPB64 dans l'échantillon. Ce complexe immun migre à travers la zone de développement par capillarité, capturé par l'anticorps anti-MPB64 fixé dans la zone de développement, et forme une ligne rouge pourpre d'or colloïdal dans la zone de lecture [T].

La ligne rouge pourpre affiche visuellement l'existence d'antigènes MPB64 dans l'échantillon.

Indépendamment de l'existence des antigènes MPB64 dans l'échantillon, l'excès d'anticorps anti-MPB64 marqués à l'or colloïdal migre à travers la zone de développement, capturé par des anticorps d'immunoglobuline anti-souris fixés dans la zone de développement, et forme une ligne rouge pourpre dans la zone de lecture [C]. Cela signifie que l'anticorps anti-MPB64 marqué à l'or colloïdale a migré normalement.

RÉACTIFS ET MATÉRIAUX FOURNIS

[REF] CATB0870 Capilia TB-Neo (100 Tests)

[REF] CATB0871 Capilia TB-Neo (10 Tests)

Plaques de test

• Composants

Anticorps monoclonal anti-MPB64 marqué à l'or colloïdale (souris) Anticorps monoclonal anti-MPB64 (souris)

MATÉRIAUX NÉCESSAIRES MAIS VENDUS SÉPARÉMENT

[REF] CATB0877 Capilia TB-Neo Extraction Buffer (20 mL/Bottle)

MATÉRIAUX NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Minuteur, micro-pipette, embouts de pipette

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

1. Précautions à prendre lors de la manipulation des échantillons

- Utiliser une suspension de culture bactérienne du milieu pour AFB ou un liquide de culture bactérienne en tant qu'échantillon. Aucun échantillon clinique tel qu'un fluide corporel humain, un mouchoir ou un liquide bronchique ne peut être directement utilisé en l'état comme échantillon.
- Des échantillons de culture doivent immédiatement être utilisés pour le test.^{Remarque}
- Les bactéries inoculées dans le milieu pour AFB doivent être manipulées avec soin car elles peuvent provoquer des infections.
- Certains échantillons, y compris des souches secondaires du *Mycobacterium bovis* BCG parmi les *M. tuberculosis* complexes (Copenhagen, Glaxo, Pasteur, et Tice) sont interprétés comme négatifs, car aucun MPB64 n'est produit à partir de ces souches secondaires.
- Bien qu'aucune réactivité croisée avec 4 souches de *M. marinum*, décrites dans la section « Réactivité croisée », n'ait été observée, la réactivité croisée avec d'autres souches de *M. marinum* n'a pas encore été étudiée.
- Ce produit n'est pas en mesure de différencier les *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* et *M. microti*, des autres, même si les résultats des tests du *M. tuberculosis* complexe sont positifs.
- Les souches comprenant le gène MPB64 qui a muté peuvent ne pas être détectées par ce produit.

^{Remarque} Des cultures positives dans un milieu liquide et des colonies dans un milieu solide peuvent être testées jusqu'à un an lorsqu'elles sont stockées à -80° C dans un bidon de test.

2. Précautions lors de l'utilisation

- Ce produit est un test rapide pour l'identification du *M. tuberculosis* complexe. **Tout diagnostic clinique doit être effectué par un médecin, en combinaison avec les symptômes cliniques et les résultats des autres tests.**
- Ce produit doit être utilisé conformément à la procédure énoncée dans cette notice.
- Afin d'éviter toute détérioration, ce produit doit être stocké entre 2° C et 30° C, à l'abri des températures et d'une humidité élevées, et des rayons directs du soleil.
- Si ce produit a été placé au réfrigérateur, il doit en être retiré au moins 30 minutes avant d'être utilisé afin qu'il s'adapte à la température ambiante.
- Les sachets en aluminium contenant les plaques de test ne doivent pas être ouverts jusqu'à ce qu'ils soient sur le point d'être utilisés.
- Vous ne devez pas toucher la zone de mise en place de l'échantillon ni la zone de lecture de la plaque de test avec les mains.

3. Précautions pour la mise au rebut

- Du fait que les plaques de test usagées, les embouts de pipette, les échantillons restants et les autres matériaux/dispositifs de test utilisés pour l'identification du *M. tuberculosis* complexe peuvent provoquer des infections, ils doivent être autoclavés (à 121° C, pendant plus de 30 min) avant leur mise au rebut.
- Lorsque des réactifs utilisant stérilisés ou d'autres matériaux de test sont mis au rebut, ils doivent être traités conformément aux lois et réglementations en vigueur relatives à l'élimination des déchets médicaux et au contrôle de la pollution de l'eau.

CONDITIONS DE STOCKAGE

Stockage : Conserver entre 2° C et 30° C

NE PAS CONGELER.

Tenir éloigné des rayons directs du soleil.

Ne pas utiliser cette plaque de test après la date d'expiration.

PRÉLÈVEMENT DE L'ÉCHANTILLON ET PRÉPARATION

1. Méthodes de prélèvement d'échantillon

- Utiliser une suspension de culture bactérienne du milieu pour AFB ou un liquide de culture bactérienne en tant qu'échantillon. Aucun échantillon clinique tel qu'un fluide corporel humain, un mouchoir ou un liquide bronchique ne peut être directement utilisé en l'état comme échantillon.
- Le laboratoire de test qui sert pour la manipulation du *M. tuberculosis* doit être isolé de l'espace extérieur par deux portes, et les mycobactéries doivent être manipulées dans une enceinte de sécurité biologique.
- Les bactéries inoculées dans le milieu pour AFB doivent être manipulées avec soin car elles peuvent provoquer des infections.
- Préparer les échantillons avec une micro-pipette et utiliser une nouvelle pointe avec un filtre pour préparer chaque échantillon.

2. Préparation de l'échantillon

Après avoir terminé le prétraitement approprié ^{Remarque} des échantillons cliniques tels que des fluides du corps humain, des mouchoirs et du liquide de lavage bronchique, inoculer l'échantillon dans un milieu de culture pour AFB.

^{Remarque} Exemple de prétraitement des expectorations :

• Méthode N-acétyl-L-cystéine-hydroxyde de sodium (NALC-NaOH) :

Ajouter au moins 2 fois le volume d'une solution NALC-NaOH dans le récipient contenant les expectorations recueillies, remuer le récipient avec un mélangeur vortex et inverser le récipient pour exposer l'intérieur du bouchon à vis et la paroi intérieure du tube à la solution NALC-NaOH. Laisser reposer le récipient à la température ambiante pendant 15 min et le secouer doucement à la main. Après avoir ajouté 10 volumes d'une solution tampon phosphate (PB) stérilisée à froid (pH 6,8) au récipient et l'avoir mélangée, centrifuger 3 000 × g pendant 20 min. Suspendre le précipité dans 1 ml de solution PB. Puis, inoculer 0,1 ml de suspension dans un milieu d'Ogawa à 1% ou inoculer 0,5 ml de la même suspension dans un milieu liquide.

• Méthode hydroxyde de sodium à 4% :

Ajouter enfin 2 volumes d'une solution d'hydroxyde de sodium à 4% au récipient contenant les expectorations recueillies, homogénéiser le mélange et inoculer immédiatement 0,1 ml du mélange dans milieu d'Ogawa à 3%.

- En cas d'utilisation d'un milieu liquide pour AFB (exemple : bouillon Middlebrook 7H9)

Laisser incubé à 37° C pendant 1 à 3 semaines jusqu'à ce que le milieu liquide devienne trouble, en raison de la croissance des bactéries. En cas d'utilisation d'un tube indicateur de croissance mycobactérienne (MGIT), laisser incubé jusqu'à ce qu'une interprétation positive soit possible. Dans les deux cas, il est nécessaire de confirmer la présence de AFB par coloration acido-résistante. Remuer le milieu liquide dans le tube de culture et utiliser le milieu comme échantillon.

- En cas d'utilisation d'un milieu solide pour AFB (exemple : milieu Ogawa) Laisser incubé à 37° C pendant 2 à 4 semaines jusqu'à ce que la croissance des colonies bactériennes soit confirmée dans le milieu solide, puis confirmer la présence de AFB par coloration acido-résistante.

① Préparer 0,2 ml de tampon d'extraction (vendu séparément) dans un tube.

② Retirer 1 µl (équivalent à la quantité d'une micro-boule de platine de 1 mm de diamètre) de la colonie bactérienne qui s'est développée dans le milieu solide.

③ Réserver les bactéries collectées dans une solution de tampon dans le tube.

④ Fermer le tube avec un bouchon et suspendre complètement avec un mélangeur vortex. Puis, utiliser la suspension bactérienne dans les échantillons.

PROCÉDURE DE TEST

- Faire tomber goutte à goutte 80 à 100 µl d'échantillon sur la zone de mise en place de l'échantillon de la plaque de test.
- Observer la zone de lecture de la plaque de test après 15 min et interpréter les résultats.

Lecture du résultat

Laisser les échantillons réagir conformément à la procédure puis lire les lignes rouge pourpre qui apparaissent dans la zone de lecture.

Positif

Lorsque l'on observe des lignes rouge pourpre en [T] et [C] dans la zone de lecture (deux lignes), le résultat est déclaré positif. Lorsque l'on observe une très légère ligne rouge pourpre en [T] dans la zone de lecture, le résultat est également déclaré positif.

Négatif

En l'absence de ligne rouge pourpre en [T] dans la zone de lecture, mais si l'on observe une ligne rouge pourpre en [C] dans la zone de lecture (une ligne), le résultat est déclaré négatif. Lorsque l'on observe de manière visuellement reconnaissable une légère ligne rouge pourpre en [C] dans la zone de lecture, le développement chromatographique s'est produit normalement.

Tester à nouveau

Lorsqu'aucune ligne rouge n'est visible en [C] dans la zone de lecture, il peut y avoir un problème dans la procédure du test ou au niveau de la qualité du réactif. Le test doit être refait, à l'aide d'une autre plaque de test.

Si la ligne se situe dans l'une des sections de la zone de lecture, en quel que point que ce soit, le test est considéré valide. (Les limites entre les sections de la zone de lecture sont représentées par les entailles dans le cadre de la fenêtre de lecture.)

(Remarque)

- Si aucune ligne n'est visible en [C] dans la zone de lecture, il peut y avoir un problème dans la procédure de test ou au niveau de la qualité du réactif. Par conséquent, le test doit être refait, à l'aide d'une autre plaque de test.
- Ne pas utiliser la plaque de test pour un résultat de lecture au-delà du temps d'évaluation (15 minutes) car le résultat peut se trouver modifié suite au séchage, etc.
- Si un résultat de test utilisant ce produit est interprété positif, la présence du *M. tuberculosis* complexe dans l'échantillon est fortement suggérée. Toutefois, il existe un risque d'infection combinée du *M. tuberculosis* et des AFB non tuberculeuses, et une infection avec des AFB non tuberculeuses ne peut être exclue.
- Vous ne devez pas toucher la zone de mise en place de l'échantillon ou la zone de lecture de la plaque de test avec les mains.
- Préparer les échantillons avec une micro-pipette et utiliser une nouvelle pointe avec un filtre pour préparer chaque échantillon.
- Même si un résultat d'analyse effectuée avec ce produit est interprété comme négatif, cela peut être dû à l'incapacité à détecter le *M. tuberculosis* complexe lorsque la concentration MPB64 dans l'échantillon est en dessous de la limite de détection ou qu'une mutation survient dans le gène MPB64 du *M. tuberculosis* complexe. ⁽²²⁾ Ainsi, un résultat négatif n'exclut pas nécessairement la possibilité d'une infection par le *M. tuberculosis*.

Tout diagnostic clinique doit être effectué par un médecin, en combinaison avec les symptômes cliniques et les résultats des autres tests.

LIMITES

- Du fait que des cultures contenant des AFB et autres sont utilisées pour les tests effectués avec ce produit, l'opération décrite dans cette notice doit être réalisée dans une enceinte de sécurité biologique, et les plaques de test utilisées doivent être manipulées avec toutes les précautions appropriées, car elles peuvent provoquer des infections.
- La plaque de test doit immédiatement être utilisée après avoir ouvert l'emballage. Quand il absorbe l'humidité, la qualité se détériore et un résultat précis ne peut être obtenu.
- Tout diagnostic clinique doit être effectué par un médecin, en combinaison avec les symptômes cliniques et les résultats des autres tests.
- Veillez utiliser ce produit en suivant la méthode d'utilisation et les précautions décrites dans cette notice. Nous ne pouvons garantir les résultats obtenus à partir d'autres opérations et à d'autres fins que celles décrites dans la notice.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

1. Données de corrélation

1) OMS Souches du *M. tuberculosis*

		Produit de contrôle		
		Positif	Négatif	Total
Ce produit	Positif	70	0	70
	Négatif	0	0	0
	Total	70	0	70

Sensibilité : 100% (70/70)
Spécificité : - (0/0)
Précision : 100% (70/70)

Comme les données ci-dessus le montrent, des résultats positifs ont également été obtenus avec ce produit pour toutes les souches OMS 70 du *M. tuberculosis* pour lesquelles des résultats positifs ont été obtenus avec le produit de contrôle.

2) Isolats cliniques du *M. tuberculosis*

		Produit de contrôle		
		Positif	Négatif	Total
Ce produit	Positif	46	0	46
	Négatif	0	5 ^{Remarque}	5
	Total	46	5	51

Sensibilité : 100% (46/46)
Spécificité : 100% (5/5)
Précision : 100% (51/51)

Comme les données ci-dessus le montrent, des résultats positifs ont également été obtenus avec ce produit pour l'ensemble des 46 isolats cliniques du *M. tuberculosis* pour lesquels des résultats positifs ont été obtenus avec le produit de contrôle.

^{Remarque} Une analyse génétique pour 5 isolats cliniques du *M. tuberculosis* pour lesquels des résultats négatifs ont été obtenus par le produit de contrôle, de même que par ce produit, a révélé qu'il y existait une mutation dans la séquence de base du gène MPB64, de sorte que ces isolats étaient des mutants dans lesquels l'expression de la protéine MPB64 était incomplète.

2. Sensibilité (limite de détection)

La limite de détection minimale est de $1,2 \times 10^6$ CFU/ml.

3. Réactivité

1) Souches démontrant la production de MPB64

Une réaction a été observée avec les 8 souches suivantes.

<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	<i>M. tuberculosis</i> H37Ra	<i>M. africanum</i>
<i>M. bovis deer</i>	<i>M. microti</i>	<i>M. bovis</i> BCG-Tokyo
<i>M. bovis</i> BCG-Russie	<i>M. bovis</i> BCG-Moreau	

2) Souches ne démontrant aucune production de MPB64

Aucune réaction n'a été observée avec les 2 souches suivantes.

<i>M. bovis</i> BCG-Pasteur	<i>M. bovis</i> BCG-Tice
-----------------------------	--------------------------

4. Réactivité croisée

La réactivité avec les mycobactéries non tuberculeuses suivantes a été vérifiée et une absence de réactivité croisée a été confirmée avec chacune d'elles.

<i>M. kansasii</i>	<i>M. simiae</i>	<i>M. asiaticum</i>
<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. goodii</i>	<i>M. avium</i>
<i>M. intracellulare</i>	<i>M. nonchromogenicum</i>	<i>M. szulgai</i>
<i>M. terrae</i>	<i>M. xenopi</i>	<i>M. ulcerans</i>
<i>M. fortuitum</i>	<i>M. chelonae</i>	<i>M. abscessus</i>
<i>M. smegmatis</i>	<i>M. vaccae</i>	<i>M. flavescens</i>
<i>M. marinum</i> JATA22-01	<i>M. marinum</i> 351-2	<i>M. marinum</i> 329
<i>M. marinum</i> 60		

SUBSTANCES INTERFÉRENTES

Des tests cliniques ont été menés pour ce produit en utilisant des cultures d'expectorations, du liquide de lavage bronchique, d'épanchement pleural, du suc gastrique et du fluide purulent comme échantillon, et aucune interférence dans les résultats des tests des échantillons cliniques n'a été observée jusqu'à présent. De plus, nous avons utilisé les milieux suivants pour AFB, et aucune interférence dans les résultats de test n'a été observée par les milieux :

- Milieu à base d'œufs : 3% Milieu Ogawa, 2% Milieu Ogawa, 1% Milieu Ogawa, Milieu Lowenstein-Jensen (LJ)
- Milieu Agar : Milieu agar Middle Brook 7H10, Milieu agar Middle Brook 7H11
- Milieu liquide : Milieu liquide Middle Brook 7H9, milieu liquide Dubos, milieu Kirchner, milieu Sauton

Comme expliqué plus haut, aucun impact de différents types d'échantillons cliniques ou de milieux de culture n'a jusqu'à présent été trouvé dans cette étude. Toutefois, on ignore si les autres substances présentes dans les échantillons peuvent affecter les résultats du test.


REFERENCES

- Mori T. Current status of tuberculosis [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999; 43:491-498.
- Shimouchi A. Tuberculosis in overseas [in Japanese]. *Clin Microbiol.* 1997; 24:9-14.
- Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Health Service Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare. *Statistics of Tuberculosis in 2004* [in Japanese]. Japan Anti-Tuberculosis Association;2004.
- Koyama A, et al. *Non-tuberculous Mycobacterium Infection* [in Japanese] Japan Anti-Tuberculosis Association;1998. JATA Books No.11.
- Okada J. Acid fast bacillus [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1996;40:589-594.
- Kanai M, et al. Clinical bacterial test. In: Kanai M, et al. *Kanai's Manual of Clinical Laboratory Medicine*, 30th ed [in Japanese]. Kanehara & Co;1993.
- Saito H, Abe C, et al. Acid Fast Bacillus Tests [in Japanese]. Ishiyaku Publishers;1997.
- Nagasawa M, et al. Identification of the *M. tuberculosis* complex and *M. avium* complex by chemiluminescence labeled DNA probe [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1992;36:197-200.
- Kusaba K, et al. Nucleic acid identification from culture isolation [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:527-531
- Goto M. Nucleic acid identification from direct clinical specimen [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:533-539.
- Abe C. Application of nucleic acid amplification to detection of tuberculosis bacteria and diagnosis [in Japanese]. *Exp Med.* 1887;15:805-807.
- Harboe M, et al. Properties of proteins MPB64, MPB70, and MPB80 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1986;52:293-302.
- Oettinger T, et al. Cloning and B-cell-epitope mapping of MPT64 from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Infect Immun.* 1994;62:2058-2064.
- Yamaguchi R, et al. Cloning and characterization of the gene for immunogenic protein MPB64 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1986;57:283-288.
- Andersen AB, et al. MPB64 possesses "tuberculosis-complex"-specific B- and T-cell epitopes. *Scand J Immunol.* 1991;34:365-372.
- Li H, et al. Evidence for absence of the MPB64 gene in some substrains of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1993;61:1730-1734.
- Abe C, et al. Simple and rapid identification of the *Mycobacterium tuberculosis* complex by immunochromatographic assay using anti-MPB64 monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol.* 1999;37:3693-3697.
- Onishi H, et al. Rapid identification of tuberculosis bacteria by the anti-MPB 64 antibody based immunochromatography [in Japanese]. *J Jpn Soc Clin Microbiol.* 1999;9:228-233.
- Furuhata Y, et al. Rapid identification of the tuberculosis complex by BACTEC MGIT 960 and MPB64 immunochromatography [in Japanese]. In: Abstracts from the 12th General Meeting for the Association for the Rapid Method and Automation in Microbiology 1999;53.
- Hasegawa N, et al. New simple and rapid test for culture confirmation of *Mycobacterium tuberculosis* complex: a multicenter study. *J Clin Microbiol.* 2002;40:908-912.
- Hasegawa M, et al. Evaluation of rapid identification method for *Mycobacterium tuberculosis* complex using the immunochromatographic slide test kit [in Japanese]. *J Jpn Assoc Infect Dis.* 2003;77:110-115.
- Hirano K, et al. Mutation including IS6110 insertion in the gene encoding the MPB64 protein of Capilia TB negative *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *J Clin Microbiol.* 2004;42:390-392.

DEMANDES DE RENSEIGNEMENTS

 **TAUNS Laboratories, Inc.**
761-1, Kamishima, Izunokuni,
Shizuoka, 410-2325 Japan

FAX : +81-558-76-0022

 **Emergo Europe**
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

LEXIQUE DES SYMBOLES



Marquage CE (Directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*)



Représentant autorisé dans la Communauté européenne



Dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*



Ne pas réutiliser



Limite de température



Fabricant/Fabriqué par



À utiliser avant MM-AAAA



Consulter les instructions d'utilisation



Code du lot



Attention, veuillez consulter les documents d'accompagnement.



Numéro du catalogue



Tenir éloigné des rayons du soleil



Contenu suffisant pour < n > tests



Fragile, à manipuler avec précaution



Ouvrir ici

Capilia™ TB-Neo

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Для обнаружения комплексных антигенов *M. tuberculosis* в суспензии бактерий, культивированных на среде для кислотоустойчивых бактерий (КУБ.) или в части жидкой среды для КУБ., в которой культивировали бактерии (для оказания помощи в диагностике туберкулеза).

РЕЗЮМЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ ТЕСТА

Туберкулез («Тб») представляет собой хроническое заболевание, вызываемое инфекцией *микобактериального туберкулеза*. Ежегодное число новых случаев заболевания туберкулезом составляет около 8,8 млн, а число умерших от туберкулеза составляет около 1,5 миллиона человек.

Число инфекций, вызванных нетуберкулезными микобактериями («НТМ»), растет в последние годы. НТМ симптомы могут быть аналогичны тем, которые вызваны туберкулезом. Крайне важно отличать НТМ инфекции от туберкулеза, чтобы определить соответствующее лечение, потому что многие НТМ устойчивы к обычным противотуберкулезным препаратам.

Определенная диагностика туберкулеза производится путем обнаружения *M. tuberculosis* в клиническом образце.

Для получения результатов для обычного метода детектирования комплекса *M. tuberculosis* (включая тестирование аккумуляции ниацина) обычно требуется 4-8 недель.

В последнее время метод идентификации на основе зонда нуклеиновой кислоты был разработан как инструмент для быстрого обнаружения комплекса *M. tuberculosis*. Тем не менее, для этого требуются сложные процедуры обработки, специальные инструменты/оборудование и квалифицированные операторы.

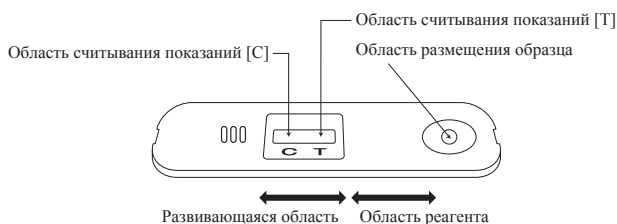
Capilia TB-Neo принимает метод иммунохроматографии, который может обнаружить антигены МРВ64, специально произведенные комплексом *M. tuberculosis*.

Capilia TB-Neo способен обнаруживать комплекс *M. tuberculosis* в бактериальных изолятах и с высокой степенью чувствительности, а также обеспечивать получение быстрых результатов тестирования с помощью простой операции. Не требуется никаких особых инструментов или оборудования.

ПРИНЦИП ТЕСТИРОВАНИЯ

Данное изделие состоит из тестовой пластины с несущей полоской, состоящей из области размещения образца, области реагента, включая моноклональное антитело (мышь) анти-МРВ64 с маркировкой из коллоидного золота (далее «антитело анти-МРВ64 с маркировкой из коллоидного золота») и области развития, которая фиксирует моноклональное антитело анти-МРВ64 (мышь) (далее «антитело анти-МРВ64»).

Названия каждой области испытательной пластины



Когда образец помещают в зону размещения образца испытательной пластины, антитело анти-МРВ64 с маркировкой коллоидным золотом растворяется и формирует иммунный комплекс с антигенами МРВ64 в образце. Этот иммунный комплекс мигрирует через развивающуюся область под действием капиллярных сил, становясь захваченным антителом анти-МРВ, зафиксированным в развивающейся области, и образует красно-фиолетовую линию коллоидного золота в зоне считывания показаний [Т].

Красно-фиолетовая линия визуально отображает наличие антигенов МРВ64 в образце.

Вне зависимости от существования антигенов МРВ64 в образце, избыток антител анти-МРВ64 с маркировкой коллоидным золотом мигрирует через развивающуюся область, захватывается антителами иммуноглобулина не мыши, зафиксированными в области развития и формирует красно-фиолетовую линию в области считывания показаний [C]. Это означает, что антитело анти-МРВ64 с маркировкой коллоидного золота мигрировало нормально.

ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

REF CATB0870 Capilia TB-Neo (100 Tests)

REF CATB0871 Capilia TB-Neo (10 Tests)

Тестовые пластины

• Компоненты

Моноклональное антитело (мышь) анти-МРВ64 с маркировкой коллоидного золота Моноклональное антитело анти-МРВ64 (мышь)

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НО ПРОДАЮЩИЕСЯ ОТДЕЛЬНО

REF CATB0877 Capilia TB-Neo Extraction Buffer (20 mL/Bottle)

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ

Таймер, микропипетка, наконечники пипеток

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Меры предосторожности при работе с образцами

- Используйте суспензию бактерий, культивируемых в среде для КУБ, или жидкость бактериальной культуры в качестве образца. Невозможно напрямую использовать клинические образцы, такие как жидкость человеческого тела, ткань или жидкость промывания бронхов, поскольку они такие же, как и образцы.
- Культивируемые образцы должны быть немедленно использованы для тестирования. Примечание
- С бактериями, засеянными в среде для КУБ, следует обращаться осторожно, поскольку они могут стать причиной возникновения инфекций.
- Некоторые образцы, включая субштаммы *Mycobacterium bovis* BCG среди комплекса *M. tuberculosis* (Копенгаген, Глаксо, Пастера и Тайс) считаются негативными, поскольку МРВ64 не производится из этих субштаммов.
- Хотя не наблюдалась перекрестная реактивность 4 штаммов *M. marinum*, которые описаны в разделе «Перекрестная реактивность», перекрестная реактивность с другими штаммами *M. marinum* еще не изучена.
- Данный продукт не способен различать каждый из штаммов *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* и *M. microti*, от других, даже если результаты тестирования комплекса *M. tuberculosis* положительные.

7) Штаммы с мутировавшим геном МРВ64 могут не быть обнаружены с помощью этого продукта.

Примечание Положительные культуры в жидких средах и колониях в твердой среде могут быть проверены в течение года, при хранении при температуре -80 °C для тестирования.

2. Меры предосторожности при использовании

- Данный продукт представляет собой экспресс-тест для идентификации комплекса *M. tuberculosis*. Любой клинический диагноз должен быть поставлен лечащим врачом, в сочетании с клиническими симптомами и прочими результатами испытаний.
- Этот продукт следует использовать в соответствии с процедурой, изложенной в данном вкладыше.
- Для того, чтобы предотвратить ухудшение, этот продукт должен храниться при температуре от 2 °C до 30 °C, избегая высоких температур, высокой влажности и прямых солнечных лучей.
- Если этот продукт был в холодильнике, то он должен быть извлечен из холодильника по крайней мере за 30 минут до использования, чтобы акклиматизироваться к комнатной температуре.
- Алюминиевые пакеты, содержащие тестовые пластины, не должны открываться до непосредственного использования.
- Область размещения образца и область считывания показаний испытательной пластины не следует трогать руками.

3. Меры предосторожности для утилизации

- Поскольку использованные испытательные пластины, наконечники пипеток, оставшиеся образцы и прочие испытательные материалы/устройства, используемые для идентификации комплекса *M. tuberculosis*, могут стать причиной возникновения инфекций, их следует автоклавировать (при 121 °C в течение более 30 мин.) перед утилизацией.
- Когда используемые стерилизованные реагенты или другие тестовые материалы утилизируются, с ними следует обращаться в соответствии с законами и правилами, касающимися утилизации медицинских отходов и борьбы с загрязнением воды.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Хранение: Хранить при температуре от 2 °C до 30 °C.

НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ.

Хранить вдали от прямого солнечного света.

Не используйте испытательную пластину по истечении срока годности.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

1. Методы отбора образцов

- Используйте суспензию бактерий, культивируемых в среде для КУБ, или жидкость бактериальной культуры в качестве образца. Невозможно напрямую использовать клинические образцы, такие как жидкость человеческого тела, ткань или жидкость промывания бронхов, поскольку они такие же, как и образцы.
- Испытательная лаборатория, которая работает с *M. tuberculosis*, должна быть изолирована от внешнего пространства двойными дверями и микобактерии должны обрабатываться в биологически безопасном кабинете.
- С бактериями, засеянными в среде для КУБ, следует обращаться осторожно, поскольку они могут стать причиной возникновения инфекций.
- Дозируйте образцы с помощью микропипетки и используйте новый наконечник с фильтром для дозирования каждого образца.

2. Подготовка образцов

После завершения соответствующей предварительной обработки Примечание клинических образцов, таких как жидкости человеческого тела, ткани и жидкости промывки бронхов, посеьте образец в культурную среду для КУБ.

Примечание Пример предварительной обработки мокроты:

• Метод гидроксид N-ацетила L-цистеина-натрия (NALC-NaOH):

Добавьте по крайней мере 2-кратный объем раствора NALC-NaOH в контейнер, содержащий собранную мокроту, перемешайте содержимое контейнера с помощью вихревого смесителя и поставьте контейнер, чтобы соединить внутреннюю часть пластмассового колпачка и внутреннюю стенку пробирки с раствором NALC-NaOH. Дайте контейнеру постоять при комнатной температуре в течение 15 минут и периодически слегка встряхивайте его рукой. После добавления стерилизованного холода, 10-кратного объема раствора фосфатного буфера (ФБ) (рН 6,8) в контейнер и его перемешивания, поставьте в центрифугу 3 000 г × на 20 мин. Растворите осадок в 1 мл раствора ФБ. Затем, посеьте 0,1 мл суспензии в 1% среду Огавы или посеьте 0,5 мл той же суспензии в жидкой среде.

• Метод с использованием 4% едкого натра:

Добавьте не менее 2-кратного объема 4% раствора едкого натра в контейнер, содержащий собранную мокроту, полностью гомогенизируйте смесь и немедленно посеьте 0,1 мл смеси в 3% среду Огавы.

1) В случае использования жидкой среды КУБ (Пример: отвар Middle Brook TH9) инкубируйте при 37 °C в течение от 1 до 3 недель, пока жидкая среда не станет мутной по причине роста бактерий. В том случае, если используется пробирка с показателем роста микобактерий (ППРМ), инкубируйте до тех пор, пока не будут получены положительные результаты. В обоих случаях необходимо подтвердить наличие КУБ с помощью кислотоустойчивого окрашивания. Перемешайте жидкую среду в пробирке с культурой и используйте среду в качестве образца.

2) В случае использования твердой среды для КУБ (пример: среда Огавы) инкубируйте при 37 °C в течение 2-4 недель, пока не подтвердится рост бактериальных колоний в твердой среде, а затем подтвердите присутствие КУБ с помощью кислотоустойчивого окрашивания.

- Дозируйте 0,2 мл из буфера для экстракции (продается отдельно) в пробирку.
- Удалите 1 мкл (эквивалент количеству платиновой микро-петли с диаметром 1 мм) из бактериальной колонии, выросшей в твердой среде.
- Оставьте собранные бактерии в буфере раствора в пробирке.
- Закройте пробирку пробкой и полностью растворите с помощью вихревого смесителя. Затем используйте бактериальную суспензию для образцов.

ПРОЦЕДУРА ТЕСТИРОВАНИЯ

- Капните 80–100 мкл образца на образец области размещения испытательной пластины.
- Обратите внимание на область считывания показаний испытательной пластины через 15 мин. и интерпретируйте результат.

Считывание результата

Образцы должны реагировать в соответствии с процедурой и можно считать показания красно-фиолетовых линий, которые появляются в области считывания показаний.

Положительный	Когда красно-фиолетовые линии видны и в [Т], и в [C] в области считывания показаний (две линии), результат читается как положительный. Когда видна очень слабая красно-фиолетовая линия в [Т] в области считывания показаний, результат также интерпретируется как положительный.
Отрицательный	Когда не видна красно-фиолетовая линия в [Т] в области считывания показаний, а только в [C] в области считывания показаний (одна линия), результат читается как отрицательный. Когда красно-фиолетовая линия в [C] в области считывания показаний слабая, но ее можно визуально распознать, это означает, что хроматографическое развитие произошло нормально.



Если в [C] в области считывания показаний не видна красно-фиолетовая линия, могут быть некоторые проблемы с процедурой испытаний или качеством реагентов. Тестирование следует провести снова, используя другую тестовую пластину.

Если линия попадает в любую секцию области считывания показаний и в любую точку, тест считается действительным. (Границы между секциями области считывания показаний показаны отметками в рамке окна считывания показаний.)

(Примечание)

1. Если в [C] в области считывания показаний линии не видны, могут быть некоторые проблемы с процедурой испытаний или качеством реагентов. Поэтому тестирование следует провести снова, используя другую тестовую пластину.
2. Не используйте тестовую пластину для считывания результатов по истечении времени определения (15 минут), поскольку результат может измениться по причине высыхания и т.д.
3. Если результат тестирования интерпретируется как положительный, настоятельно рекомендуется присутствие комплекса *M. tuberculosis* в образце. Тем не менее, существует возможность комбинированных инфекций *M. tuberculosis* и нетуберкулезных КУБ, а инфекцию нетуберкулезными КУБ нельзя исключить.
4. Область размещения образца или область считывания показаний испытательной пластины не следует трогать руками.
5. Дозируйте образцы с помощью микропипетки и используйте новый наконечник с фильтром для дозирования каждого образца.
6. Даже если результат тестирования с использованием данного продукта интерпретируется как отрицательный, это может быть по причине нестабильности обнаружения комплекса *M. tuberculosis*, когда концентрация МРВ64 в образце ниже предела обнаружения или возникает мутация гена МРВ64 комплекса *M. tuberculosis*.⁽²³⁾ Таким образом, отрицательный результат не обязательно исключает возможность заражения *M. tuberculosis*.

Любой клинический диагноз должен быть поставлен лечащим врачом, в сочетании с клиническими симптомами и прочими результатами испытаний.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- 1) Так культуры, содержащие КУБ и так далее, используются для испытаний с использованием данного продукта, то операция, описанная в этом вкладыше должна проводиться в биологически безопасном кабинете, а с используемыми испытательными пластинами следует обращаться осторожно, поскольку они могут стать причиной возникновения инфекций.
- 2) Испытательная пластина должна использоваться сразу после открытия упаковок. Когда она поглощает влагу, качество ухудшается, и точный результат не может быть получен.
- 3) Любой клинический диагноз должен быть поставлен лечащим врачом, в сочетании с клиническими симптомами и прочими результатами испытаний.
- 4) Пожалуйста, используйте этот продукт, следуя рабочему методу и мерам предосторожности, которые описаны в данном вкладыше. Мы не можем гарантировать результаты, полученные в ходе любых других операций, а также для любых других целей, которые не описаны во вкладыше.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТИ

1. Данные корреляции
 - 1) Штаммы ВОЗ *M. tuberculosis*

		Контрольный продукт		
		Положительный	Отрицательный	Всего
Этот продукт	Положительный	70	0	70
	Отрицательный	0	0	0
	Всего	70	0	70

Чувствительность: 100% (70/70)
 Специфичность: - (0/0)
 Точность: 100% (70/70)

Как показывают приведенные выше данные, положительные результаты также были получены с помощью этого продукта для всех 70 штаммов *M. tuberculosis* по ВОЗ, для которых были получены положительные результаты с помощью контрольного продукта.

- 2) Клинический изолят *M. tuberculosis*

		Контрольный продукт		
		Положительный	Отрицательный	Всего
Этот продукт	Положительный	46	0	46
	Отрицательный	0	5 ^{Примечание}	5
	Всего	46	5	51

Чувствительность: 100% (46/46)
 Специфичность: 100% (5/5)
 Точность: 100% (51/51)

Как показывают приведенные выше данные, положительные результаты также были получены с помощью всех 46 клинических изолятов *M. tuberculosis* по ВОЗ, для которых были получены положительные результаты с помощью контрольного продукта.

^{Примечание} Анализ ген для 5 клинических изолятов *M. tuberculosis*, для которых отрицательные результаты были получены с помощью контрольного продукта, а также с помощью данного продукта, показал, что существуют мутации в последовательности оснований гена МРВ64, поэтому эти изоляты были мутировавшими, в которых выражение белка МРВ64 было неполным.

2. Чувствительность (предел обнаружения)

Минимальный предел обнаружения составляет 1,2 × 10⁶ КОЕ/мл.

3. Реактивность

- 1) Штаммы, демонстрирующие производство МРВ64

Реакция наблюдалась со следующими 8 штаммами.

<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	<i>M. tuberculosis</i> H37Ra	<i>M. africanum</i>
<i>M. bovis</i> deer	<i>M. microti</i>	<i>M. bovis</i> БЦЖ-Токио
<i>M. bovis</i> БЦЖ-Россия	<i>M. bovis</i> БЦЖ-Моро	

- 2) Штаммы, демонстрирующие отсутствие производства МРВ64

Реакция не наблюдалась со следующими 2 штаммами.

<i>M. bovis</i> БЦЖ-Пастера	<i>M. bovis</i> БЦЖ-Тайс
-----------------------------	--------------------------

4. Перекрестная реактивность

Реактивность со следующими нетуберкулезными микобактериями проверялась и отсутствие перекрестной реактивности было подтверждено со всеми.

<i>M. kansasii</i>	<i>M. simiae</i>	<i>M. asiaticum</i>
<i>M. scrofulaceum</i>	<i>M. goodii</i>	<i>M. avium</i>
<i>M. intracellulare</i>	<i>M. nonchromogenicum</i>	<i>M. szulgai</i>
<i>M. terrae</i>	<i>M. xenopi</i>	<i>M. ulcerans</i>
<i>M. fortuitum</i>	<i>M. chelonae</i>	<i>M. abscessus</i>
<i>M. smegmatis</i>	<i>M. vaccae</i>	<i>M. flavescens</i>
<i>M. marinum</i> JATA22-01	<i>M. marinum</i> 351-2	<i>M. marinum</i> 329
<i>M. marinum</i> 60		

ПРЕПЯТСТВУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Клинические испытания были проведены для этого продукта с использованием культур из мокроты, бронхиального лаважа, плеврита, желудочного сока и гнойной жидкости в качестве образцов, и никакого вмешательства в результаты испытаний клинических образцов до сих пор не наблюдалось. Кроме того, мы использовали следующую среду для КУБ, и не было обнаружено никакого вмешательства среды в результаты испытаний:

• Среда на яичной основе: 3% среда Огавы, 2% среда Огавы, 1% среда Огавы, среда Левенштейна-Йенсена (LJ)

• Среда агар: среда агар Middle Brook 7H10, Middle Brook 7H11

• Жидкая среда: Middle Brook 7H9, Дюбо, Кишнер, Сайтон

Как объяснено выше, никакого воздействия от различных видов клинических образцов или среды культуры до сих пор не было обнаружено в исследовании. Тем не менее, не известно, есть ли какие-либо другие вещества, присутствующие в образцах, которые могут повлиять на результаты испытаний.

REFERENCES

- 1) Mori T. Current status of tuberculosis [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999; 43:491-498.
- 2) Shimouchi A. Tuberculosis overseas [in Japanese]. *Clin Microbiol.* 1997; 24:9-14.
- 3) Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Health Service Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare. *Statistics of Tuberculosis in 2004* [in Japanese]. Japan Anti-Tuberculosis Association, 2004.
- 4) Koyama A, et al. Non-tuberculous *Mycobacterium Infection* [in Japanese] Japan Anti-Tuberculosis Association; 1998. JATA Books No.11.
- 5) Okada J. Acid fast bacillus [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1996;40:589-594.
- 6) Kanai M, et al. Clinical bacterial test. In: Kanai M, et al. *Kanai's Manual of Clinical Laboratory Medicine*, 30th ed [in Japanese]. Kanehara & Co; 1993.
- 7) Saito H, Abe C, et al. Acid Fast Bacillus Tests [in Japanese]. Ishiyaku Publishers; 1997.
- 8) Nagasawa M, et al. Identification of the *M. tuberculosis complex* and *M. avium complex* by chemiluminescence labeled DNA probe [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1992;36:197-200.
- 9) Kusaba K, et al. Nucleic acid identification from culture isolation [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:527-531
- 10) Goto M. Nucleic acid identification from direct clinical specimen [in Japanese]. *J Clin Lab Med.* 1999;43:533-539.
- 11) Abe C. Application of nucleic acid amplification to detection of tuberculosis bacteria and diagnosis [in Japanese]. *Exp Med.* 1887;15:805-807.
- 12) Harboe M, et al. Properties of proteins MPB64, MPB70, and MPB80 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1986;52:293-302.
- 13) Oettinger T, et al. Cloning and B-cell-epitope mapping of MPT64 from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Infect Immun.* 1994;62:2058-2064.
- 14) Yamaguchi R, et al. Cloning and characterization of the gene for immunogenic protein MPB64 of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1986;57:283-288.
- 15) Andersen AB, et al. MPB64 possesses "tuberculosis-complex"-specific B-and T-cell epitopes. *Scand J Immunol.* 1991;34:365-372.
- 16) Li H, et al. Evidence for absence of the MPB64 gene in some substrains of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect Immun.* 1993;61:1730-1734.
- 17) Abe C, et al. Simple and rapid identification of the *Mycobacterium tuberculosis complex* by immunochromatographic assay using anti-MPB64 monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol.* 1999;37:3693-3697.
- 18) Onishi H, et al. Rapid identification of tuberculosis bacteria by the anti- MPB 64 antibody based immunochromatography [in Japanese]. *J Jpn Soc Clin Microbiol.* 1999;9:228-233.
- 19) Furuhashi Y, et al. Rapid identification of the tuberculosis complex by BACTEC MGIT 960 and MPB64 immunochromatography [in Japanese]. In: Abstracts from the 12th General Meeting for the Association for the Rapid Method and Automation in Microbiology 1999;53.
- 20) Hasegawa N, et al. New simple and rapid test for culture confirmation of *Mycobacterium tuberculosis complex*: a multicenter study. *J Clin Microbiol.* 2002;40:908-912.
- 21) Hasegawa M, et al. Evaluation of rapid identification method for *Mycobacterium tuberculosis complex* using the immunochromatographic slide test kit [in Japanese]. *J Jpn Assoc Infect Dis.* 2003;77:110-115.
- 22) Hirano K, et al. Mutation including IS6110 insertion in the gene encoding the MPB64 protein of Capilia TB negative *Mycobacterium tuberculosis isolates*. *J Clin Microbiol.* 2004;42:390-392.

ЗАПРОСЫ

761-1, Kamishima, Izunokuni,
Shizuoka, 410-2325 Japan

ФАКС: +81-558-76-0022

ECREP Emergo Europe
 Prinsessegracht 20
 2514 AP The Hague
 The Netherlands

СЛОВАРЬ СИМВОЛОВ

	Маркировка CE (Европейская Директива 98/79/ЕС о методе в пробирке диагностических медицинских приборов)		Уполномоченный представитель в Европейском сообществе
	В пробирке диагностическое медицинское устройство		Не используйте повторно
	Ограничение температуры		Производитель/ Произведено от
	Используйте до ГГГГ-ММ		Обратитесь к инструкции по применению
	Код партии		Внимание, смотрите сопроводительные документы.
	Номер каталога		Хранить вдали от солнечного света
	Содержание, которого достаточно для испытаний		Хрупкий, обращаться с осторожностью
	Откройте здесь		

