

TB-CHECK-1

Test rapido immunocromatografico per il rilevamento degli anticorpi della Tubercolosi nei campioni di sangue intero, siero, o plasma

- Ref. 22071 -

I. PRINCIPIO

La tubercolosi è ancora oggi un importante problema medico e socio-economico in tutto il mondo. Nel 1995, nel mondo, molte persone morirono per tubercolosi più di altre malattie infettive. Secondo il Centro Controllo delle Malattie (USA), è aumentata l'incidenza della Tubercolosi, da 7.5 milioni di casi/anno nel 1995 a 11.9 milioni casi/anno nel 2005. Il tasso di mortalità, è stimato al 55% per i soggetti non trattati e 15% per quelli trattati.

I test diagnostici comunemente utilizzati per la diagnosi della tubercolosi come la ricerca e l'esame colturale dei batteri nell'escreato o in altri fluidi, il test cutaneo per la tubercolina e le indagini radiologiche non raggiungono la sensibilità richiesta. Attualmente, il modo migliore per la diagnosi della tubercolosi per studi clinici ed epidemiologici, è rappresentato dai metodi sierologici come l'emoagglutinazione, la fissazione del complemento, l'immunofluorescenza, i test ELISA e la radioimmuno diffusione (1,2,3). Purtroppo la necessità di personale altamente qualificato e di costose apparecchiature per l'esecuzione di questi test, sono una seria limitazione alla diffusione dei test nei paesi in via di sviluppo.

Il TB-CHECK-1 è un test rapido qualitativo di screening per il rilevamento degli anticorpi umani contro il Bacillo di Koch (*Mycobacterium tuberculosis*), in siero, plasma o sangue intero. Il test è in grado di rilevare specificatamente anticorpi in pazienti nella fase attiva della malattia. Campioni di soggetti vaccinati non reagiscono con il TB-CHECK-1.

Il metodo impiega un'unica combinazione di anticorpi monoclonali anti Immunoglobuline umane coniugati con un colorante (oro-colloidale) e proteine BCG altamente purificate per la ricerca specifica degli anticorpi anti Bacillo di Koch. Il test ricerca principalmente IgG e IgA, ma anche le IgM reagiscono se presenti ad elevate concentrazioni. La sensibilità è fissata a 350 unità in accordo con precedenti studi (4) che stabiliscono questo valore di cut-off come il migliore per un test sierologico per la Tubercolosi in ordine a sensibilità, specificità e valore predittivo. Quando il campione fluisce attraverso il dispositivo assorbente, le anti Immunoglobuline umane coniugate con un colorante si legano agli anticorpi umani IgG formando un complesso antigene-anticorpo. Questo complesso si lega alle proteine BCG presenti nella finestra di reazione positiva (T) producendo una banda di colore rosa. In assenza dei anticorpi anti BCG non compare alcuna banda nella zona di reazione positiva (T). Il campione continua a fluire lungo il dispositivo assorbente passando la zona di reazione e del controllo. Il coniugato non legato si lega ai

reagenti posti nella zona del controllo (C), producendo una banda di colore rosa che dimostra che i reagenti hanno funzionato correttamente.

II. COMPONENTI DEL KIT TB-CHECK-1

Ogni kit contiene il necessario per eseguire 10 o 20 test:

| | | |
|--|--------|-----|
| - dispositivi di reazione TB-CHECK-1 | 10 | 20 |
| - diluente in una boccetta contagocce con soluzione tampone salina, con detergente e sodio azide ($\text{NaN}_3 < 0.1\%$), | 2,5 mL | 5mL |
| - pipette monouso | 10 | 20 |
| - Istruzioni per l'uso | 1 | 1 |

III. STOCCAGGIO E STABILITÀ

1. Tutti i componenti del kit TB-CHECK-1 dovrebbero essere conservati a temperatura ambiente ($4^\circ - 30^\circ\text{C}$) nelle buste termosaldate.
2. **Non congelare il kit.**
3. Il TB-CHECK-1 è stabile fino alla data di scadenza scritta nell'etichetta della confezione.

IV. PRECAUZIONI

1. Questo test è destinato all'uso diagnostico *in vitro* e solo per uso professionale.
2. Leggere attentamente il foglietto illustrativo prima di utilizzare questo test.
3. Non utilizzare dopo la data di scadenza scritta nell'etichetta della confezione.
4. Non utilizzare il dispositivo conservato in un involucro protettivo danneggiato.
5. Trattare tutti i campioni come campioni potenzialmente infetti. Dopo l'esecuzione del test, smaltire attentamente i campioni dopo averli autoclavati per almeno un'ora a $+121^\circ\text{C}$. Alternativamente, possono essere trattati con una soluzione allo 0,5 o 1% di ipoclorito di sodio per un'ora prima dello smaltimento.
6. Indossare gli appositi D. P. I. durante l'esecuzione del test.
7. Non mangiare, bere o fumare nell'area dove sono maneggiati i reagenti del kit ed i campioni.
8. Evitare qualsiasi contatto tra le mani, occhi e naso durante la raccolta del campione e l'esecuzione del test.



V. ISTRUZIONI PER LA RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Siero, plasma (litio o ammonio eparina, EDTA) o sangue intero.

I campioni dovrebbero essere raccolti in condizioni standard di laboratorio (asetticamente, in modo da evitare emolisi).

Dovrebbe essere usato sangue fresco quando viene eseguito il test con sangue intero (< 4 ore).

Se il test viene eseguito entro 48 ore dopo la raccolta, il campione deve essere conservato in frigo (2°- 8°C). Se il campione viene testato dopo 48 ore, il campione deve essere congelato. Il campione congelato deve essere completamente scongelato, mescolato accuratamente e portato a temperatura ambiente prima di testarlo. Non congelare e scongelare ripetutamente i campioni, può causare errori nei risultati. In caso di campione torbido, molto viscoso o particolato nel siero, dovrebbe essere diluito con uguale volume (V/V) di soluzione di diluizione (non fornita ma disponibile su richiesta) prima di eseguire il test.

VI. PROCEDURA

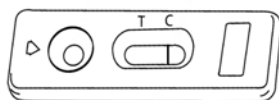
1. Portare tutti i campioni e il TB-CHECK-1 a temperatura ambiente.
2. Rimuovere il test dalla bustina termosaldata strappando lungo il pretaglio.
3. Scrivere il nome del paziente o numero di controllo sul dispositivo.
4. Aspirare con la pipetta monouso il campione (siero o plasma) e mantenendola in posizione verticale, dispensare una goccia (25 µL) nel pozzetto (▷). Se viene usato sangue intero, dispensare 2 gocce (50 µL) nel pozzetto (▷) **e attendere che il campione di sangue intero sia completamente assorbito prima di aggiungere il diluente.**
5. Aggiungere esattamente 5 gocce di diluente (200 µL) nel pozzetto (▷).
6. Leggere i risultati del test dopo 10-15 minuti.

NON INTERPRETARE I RISULTATI DEL TEST DOPO 15 MINUTI.

VII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

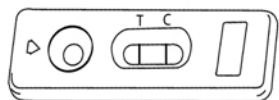
A. Negativo

Appare solo una banda colorata nella zona del controllo (C).



B. Positivo

Oltre alla banda del controllo, si distingue nettamente la o le bande nella zona reattiva del test (T).



C. Non valido

Se Non appare la banda del controllo (C) il test non è valido. In questo caso si raccomanda di rivedere la procedura e ripetere il test.

VIII. CARATTERISTICHE

a. Sensibilità

Un gruppo di 23 sieri positivi e negativi, pre-testati con il metodo ELISA per IgG, IgA e IgM, sono stati testati con TB-CHECK-1. I risultati sono stati riportati nella tabella I e dimostrano una sensibilità di circa 250 U/mL sia per IgG che per IgA. La sensibilità finale del test è stata ulteriormente aggiustata a 350U/mL in modo da ottimizzare la sensibilità, specificità e valore predittivo del test (4).

| Siero | ELISA | | | TB-CHECK-1 (15 min) |
|---------|------------|------|------------|---------------------|
| | IgG (U/mL) | IgA | IgM (U/mL) | |
| 830 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 866 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 868 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 869 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 870 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 871 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 876 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 881 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 883 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 910 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 919 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 921 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| HM | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 832 | 130 | neg. | weak+ | pos. |
| 873 | 258 | neg. | neg. | pos. |
| 834 | 430 | neg. | weak+ | pos. |
| 879 | 525 | 200 | neg. | pos. |
| 849 | neg. | 290 | pos. | pos. |
| 878 | weak+ | 435 | pos. | pos. |
| 828 | neg. | 240 | pos. | pos. |
| 849 | neg. | 290 | pos. | pos. |
| M 10/11 | 700 | 350 | weak+ | pos. |
| M 24/10 | 1000 | 1000 | pos. | pos. |
| 874 | 500 | 1600 | pos. | pos. |

Tabella I: Confronto tra TB-CHECK-1 ed il metodo ELISA

E' stato condotto un'altro studio su 391 persone clinicamente caratterizzate. I risultati sono riassunti nella tabella II.

| Stato clinico | Risultati TB-CHECK-1 | | | |
|--|----------------------|----------|----------|------------|
| | n. | Positivi | Negativi | Positivi % |
| 1. Tubercolosi polmonare attiva | 130 | 113 | 17 | 87 |
| 2. Micobatterio attivo non tubercolare (NTM) | 24 | 20 | 4 | 83 |
| 3. Tubercolosi vecchia | 15 | 4 | 11 | 27 |
| 4. Altro tipo di malattia respiratoria | 79 | 4 | 75 | 5 |
| 5. Altra malattia | 60 | 2 | 58 | 3 |
| 6. Soggetti sani | 83 | 7 | 76 | 8 |
| Total | 391 | | | |

Tabella II: Valutazione dei risultati di TB-CHECK-1

| Risultati test dello striscio | Risultati TB-CHECK-1 | | | |
|-------------------------------|----------------------|------------|-----------|-----------------|
| | n. | Positivi | Negativi | Sensibilità (%) |
| G0 (negativo) | 23 | 18 | 5 | 78 |
| G1-G3 | 66 | 54 | 12 | 82 |
| G4-G6 | 46 | 43 | 3 | 93 |
| G7-G10 | 19 | 18 | 1 | 95 |
| Totale | 154 | 133 | 21 | 86,4% |

Tabella III: Confronto dei risultati tra TB-CHECK-1 e test dello striscio

| Risultati coltura dell'escreato | Risultati TB-CHECK-1 | | | |
|---------------------------------|----------------------|------------|-----------|-----------------|
| | n. | Positivi | Negativi | Sensibilità (%) |
| - | 6 | 5 | 1 | 83 |
| + | 75 | 59 | 16 | 79 |
| 2+ | 35 | 32 | 3 | 91 |
| 3+ | 23 | 22 | 1 | 96 |
| 4+ | 11 | 11 | 0 | 100 |
| Total | 150 | 129 | 21 | 86% |

Tabella IV: Confronto dei risultati tra TB-CHECK-1 e coltura dell'escreato

| Test cutaneo per la tubercolina | Risultati TB-CHECK-1 | | | |
|---------------------------------|----------------------|-----------|-----------|-----------------|
| | n. | Positivi | Negativi | Sensibilità (%) |
| 0.5-5 mm | 5 | 4 | 1 | 80 |
| 6-10 mm | 7 | 6 | 1 | 86 |
| 11-20 mm | 33 | 24 | 9 | 73 |
| 21-40 mm | 29 | 25 | 4 | 86 |
| 41- mm | 10 | 9 | 1 | 90 |
| Total | 84 | 68 | 16 | 81% |

Tabella V: Confronto dei risultati tra TB-CHECK-1 e il test cutaneo per la tubercolina

| Indagini cliniche | | Risultati TB-CHECK-1 | | | |
|---------------------|------------------|----------------------|------------|-----------|-----------------|
| | | n. | Positivi | Negativi | Sensibilità (%) |
| Primo attacco: | - Meno di 3 mesi | 64 | 53 | 11 | 83 |
| | - Più di 3 mesi | 29 | 27 | 2 | 93 |
| Ricaduta: | - Meno di 3 mesi | 15 | 13 | 2 | 87 |
| | - Più di 3 mesi | 10 | 9 | 1 | 90 |
| Tubercolosi cronica | | 12 | 11 | 1 | 92 |
| Total | | 130 | 113 | 17 | 87% |

Tabella VI: Risultati del TB-CHECK-1 secondo le indagini cliniche

b. Specificità

Dai risultati della tabella II, la specificità del test è stata così calcolata:

$$\begin{aligned} \text{Specificità} &= \frac{\text{negativi con TB-CHECK-1}}{\text{Stato clinico negativo}} \times 100 \\ &= \frac{(11+75+58+76)}{(15+79+60+83)} \times 100 \\ &= \frac{220}{237} \times 100 = \mathbf{92.8\%} \end{aligned}$$

c. Conformità generale

Dai risultati riassunti nella tabella II, la concordanza del test relativa agli stati clinici è stato così calcolato:

$$\begin{aligned} \text{Correlazione} &= \frac{\text{positivi reali} + \text{negativi reali}}{\text{Casi totali}} \times 100 \\ &= \frac{(113+20) + (11+75+58+76)}{391} \times 100 \\ &= \frac{353}{391} \times 100 = \mathbf{90\%} \end{aligned}$$

d. Sostanze interferenti

Come evidenziato nella tabella II, le infezioni di altri micobatteri interferiscono altamente con il TB-CHECK-1 (gruppo 2: micobatterio attivo non tubercolare).

e. Riproducibilità

Tra test (stesso lotto)

La precisione è stata determinata utilizzando 3 repliche di quattro campioni positivi (con diversi livelli anticorpali) e un campione negativo.

I valori negativi e positivi sono stati identificati correttamente il 100% delle volte.

Tra lotti

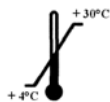
La precisione di esecuzione è stata determinata utilizzando gli stessi quattro campioni positivi e il campione negativo, come per la prova tra-test, con cinque diversi lotti del dispositivo di reazione. I valori negativi e positivi sono stati identificati correttamente il 100% delle volte.

IX. LIMITAZIONI

1. Come per ogni procedura diagnostica *in vitro*, il medico deve valutare i dati ottenuti alla luce di altre indagini cliniche.
2. Un'infezione precoce di tubercolosi può indurre a risultati falsamente negativi, causati da una bassa concentrazione di anticorpi anti-tubercolosi nei campioni di siero, plasma o sangue intero.
3. Il TB-CHECK-1 è altamente reattivo con altri micobatteri ed in alcuni casi devono essere identificati prima dell'esecuzione del test.
4. Un risultato positivo non esclude la presenza di altri patogeni.

X. BIBLIOGRAFIA

1. **Grange J.M.** (1984), "The humoral immune response in Tuberculosis: its nature, biological role and diagnostic usefulness." In: Fow W., Grosset J., Styblo K. (eds) – Advances in tuberculosis research vol. 21 Karger – Basel 1:78.
2. **Krambovitis E.** (1987), "Serodiagnosis of Tuberculosis in perspective" – Serodiagn. Immunoth 1: 7-19.
3. **Daniel T.M. and Debanne S.M.** (1987), "The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by ELISA" – Am. Rev. Respir. Dis. 135:1137-1151.
4. **Toman K.** (1981) "Sensitivity, specificity and predictive value of diagnosis tests" – Bull. Int. Union Tuberc. 56:18/28.



Temperatura di conservazione



Consultare la metodica acclusa nel kit



Non riutilizzare



Per uso diagnostico *in vitro*

Prodotto da VEDALAB - Francia

TB-CHECK-1

Immunochromatographic rapid test for the detection of Tuberculosis antibody in whole blood, serum or plasma samples

- Ref. 22071 -

I- PRINCIPLE

Tuberculosis remains an important socio-economical and medical problem throughout the world. In 1995, more people died of tuberculosis in the world than of any other infectious disease. According to the Center of Disease Control, the incidence of TB is expected to increase from 7.5 millions cases per year in 1995 to 11.9 millions in 2005. The case fatality rate is estimated at 55% for untreated people and 15% for the treated patients.

The commonly used diagnostic tests for the tuberculosis such as sputum examination of acid fast bacilli, culture of sputum or other fluids, the tuberculin skin test and radiological investigations, do not achieve the required diagnostic sensitivity.

Actually, the best assets for clinical and epidemiological work in the diagnosis of tuberculosis are serological tests such as haemagglutination, complement fixation, immunofluorescence, ELISA and radioimmunoassay techniques (1, 2, 3). But the highly qualified technicians and expensive material needed to perform tuberculosis tests using the above methods are a serious limitation in developing countries.

TB-CHECK-1 is a rapid qualitative screening test for the detection of human antibodies to Koch's bacillus in whole blood, serum or plasma samples. The test is able to specifically detect antibodies from patient in active phase of disease. Samples from vaccinated people will not react with TB-CHECK-1.

The method employs a unique combination of anti-human immunoglobulins dye conjugate and highly purified BCG proteins to specifically detect anti Koch antibodies. The test is mainly detecting IgG and IgA but IgM are also reacting in case of high concentration. The sensitivity has been adjusted to 350 units in accordance with a previous study (4) establishing this cut-off value as the best regarding specificity, sensitivity and predictive value for a serological tuberculosis test. As the samples flows through the absorbent device, the anti human immunoglobulins dye conjugate binds to the human IgG antibodies forming an antibody-antigen complex. This complex binds to the BCG proteins in the positive reaction zone (T) and produces a pink-rose colour band. In the absence of anti BCG antibodies, there is no line in the reaction zone (T). The reaction mixture continues flowing through the absorbent device past the reactive zone and control zone. Unbound conjugate binds to the reagents in the control zone (C), producing a pink-rose colour band, demonstrating that the reagents are functioning correctly.

II- TB-CHECK-1 KIT COMPONENTS

Each kit contains everything needed to perform 10 or 20 tests.

| | | |
|--|-------|-----|
| - TB-CHECK-1 reaction devices | 10 | 20 |
| - Diluent in a dropper bottle containing saline buffer, detergent and sodium azide (NaN ₃ < 0.1%) | 2.5mL | 5mL |
| - Disposable plastic pipettes | 10 | 20 |
| - Instruction leaflet | 1 | 1 |

III- STORAGE AND STABILITY

1- All TB-CHECK-1 kit components should be stored at room temperature (+4°C to +30°C) in the sealed pouch.

2- **Do not freeze the test kit**

3- The TB-CHECK-1 is stable until the expiry date stated on the package label.

IV- PRECAUTIONS

1- This test is designed for *in vitro* diagnostic use and professional use only.

2- Read carefully instruction leaflet before using this test.

3- Do not use beyond the expiry date which appears on the package label.

4- Do not use a test from a damaged protective wrapper.

5- Handle all specimens as if they contained infectious agents. When the assay procedure is completed, dispose of specimens carefully after autoclaving them for at least one hour. Alternatively, they can be treated with 0.5 to 1% solution of sodium hypochlorite for one hour before disposal.

6- Wear protective clothing such as laboratory coats and disposable gloves while assaying samples.

7- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and kit reagents are handled.

8- Avoid any contact between hands and eyes or nose during specimen collection and testing.

V- SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum, plasma (lithium or ammonium heparinate, EDTA) or whole blood

The specimen should be collected under the standard laboratory conditions (aseptically in such a way as to avoid hemolysis).

When the test is performed with whole blood, fresh samples should be used (< 4hours).

If the test is to be run within 48 hours after collection, the specimen should be stored in the refrigerator (+2°C to +8°C). If testing is delayed more than 48 hours, the specimen should be frozen. The frozen specimen must be completely thawed,



thoroughly mixed and brought to room temperature prior to testing. Avoid repeated freezing and thawing.

In case of cloudiness, high viscosity or presence of particulate matter into the serum specimen, it should be diluted with equal volume (V/V) of diluting buffer (not provided but available upon request) before testing.

VI- ASSAY PROCEDURE

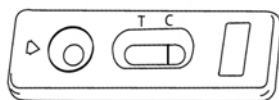
- 1- Allow samples and TB-CHECK-1 test devices to come to room temperature prior to testing.
- 2- Remove the reaction device from its protective wrapper by tearing along the split.
- 3- Label device with the patient's name or control number.
- 4- Fill the serum dropper with specimens (serum or plasma) and by holding it vertically, dispense one drop (25 µL) into sample well (▷). If whole blood is used, dispense two drops (50 µL) into the sample well (▷) **and wait for the whole blood sample to be completely absorbed before adding diluent.**
- 5- Add exactly 5 full drops of diluent (200 µL) in the sample well (▷).
- 6- Read the results after 10 to 15 minutes.

DO NOT INTERPRETE THE TEST AFTER 15 MINUTES.

VII- READING TEST RESULTS

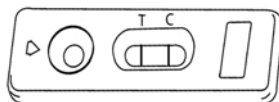
A. Negative

Only one coloured band shows in the control zone (C).



B. Positive

In addition to the control band, a clearly distinguishable band also shows in the test zone (T) indicating a positive result.



C. Inconclusive

If there is no distinct coloured band visible in the control zone (C), the test is inconclusive. In this case, it is recommended to repeat the test.

VIII- PERFORMANCES CHARACTERISTICS

a) Sensitivity

A panel of 23 positive and negative sera, preassayed with an ELISA method for IgG, IgA and IgM, has been tested with TB-CHECK-1. The results are summarized in Table I and show a sensitivity of around 250 U/mL both for IgG and IgA. The final sensitivity test has been further adjusted to 350 U/mL in order to optimize the sensitivity, the specificity and the predictive value of the test (4).

| Serum | ELISA | | | TB-CHECK-1 (15 min) |
|---------|------------|------|------------|---------------------|
| | IgG (U/mL) | IgA | IgM (U/mL) | |
| 830 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 866 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 868 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 869 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 870 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 871 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 876 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 881 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 883 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 910 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 919 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 921 | neg. | neg. | neg. | neg. |
| HM | neg. | neg. | neg. | neg. |
| 832 | 130 | neg. | weak+ | pos. |
| 873 | 258 | neg. | neg. | pos. |
| 834 | 430 | neg. | weak+ | pos. |
| 879 | 525 | 200 | neg. | pos. |
| 849 | neg. | 290 | pos. | pos. |
| 878 | weak+ | 435 | pos. | pos. |
| 828 | neg. | 240 | pos. | pos. |
| 849 | neg. | 290 | pos. | pos. |
| M 10/11 | 700 | 350 | weak+ | pos. |
| M 24/10 | 1000 | 1000 | pos. | pos. |
| 874 | 500 | 1600 | pos. | pos. |

Table I : Comparison of TB-CHECK-1 and Elisa method

Another study was performed on 391 clinically characterized people. Results are summarized in Table II.

| Clinical status | TB-CHECK-1 results | | | |
|--|--------------------|----------|----------|------------|
| | n. | Positive | Negative | Positive % |
| 1. Active pulmonary tuberculosis | 130 | 113 | 17 | 87 |
| 2. Active non tuberculosis mycobacteriosis (NTM) | 24 | 20 | 4 | 83 |
| 3. Old tuberculosis | 15 | 4 | 11 | 27 |
| 4. Other respiratory diseases | 79 | 4 | 75 | 5 |
| 5. Other diseases | 60 | 2 | 58 | 3 |
| 6. Healthy subjects | 83 | 7 | 76 | 8 |
| Total | 391 | | | |

Table II : TB-CHECK-1 evaluation results

The sensitivity of the test is shown to be 87% (113/130) for pulmonary tuberculosis, 83% (20/24) non tuberculosis mycobacteriosis and 86% (133/154) overall.

The Tables III, IV, V and VI show the performances of TB-CHECK-1 in comparison with different detection methods (smear test, sputum culture or PPD) and according to clinical recordings. Only people belonging to the groups (1) or (2) (active mycobacteriosis) were selected for these studies.

| Smear test results | TB-CHECK-1 Results | | | |
|--------------------|--------------------|------------|-----------|-----------------|
| | n. | Positive | Negative | Sensitivity (%) |
| G0 (negative) | 23 | 18 | 5 | 78 |
| G1-G3 | 66 | 54 | 12 | 82 |
| G4-G6 | 46 | 43 | 3 | 93 |
| G7-G10 | 19 | 18 | 1 | 95 |
| Total | 154 | 133 | 21 | 86.4% |

Table III : Comparison of the results of

| Sputum culture results | TB-CHECK-1 Results | | | |
|------------------------|--------------------|------------|-----------|-----------------|
| | n. | Positive | Negative | Sensitivity (%) |
| - | 6 | 5 | 1 | 83 |
| + | 75 | 59 | 16 | 79 |
| 2+ | 35 | 32 | 3 | 91 |
| 3+ | 23 | 22 | 1 | 96 |
| 4+ | 11 | 11 | 0 | 100 |
| Total | 150 | 129 | 21 | 86% |

Table IV : Comparison of the results of TB-CHECK-1 and sputum culture methods

| PPD reaction results | TB-CHECK-1 Results | | | |
|----------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------------|
| | n. | Positive | Negative | Sensitivity (%) |
| 0.5-5 mm | 5 | 4 | 1 | 80 |
| 6-10 mm | 7 | 6 | 1 | 86 |
| 11-20 mm | 33 | 24 | 9 | 73 |
| 21-40 mm | 29 | 25 | 4 | 86 |
| 41- mm | 10 | 9 | 1 | 90 |
| Total | 84 | 68 | 16 | 81% |

Table V : Comparison of the results of TB-CHECK-1 and PPD reaction methods

| Clinical recordings | | TB-CHECK-1 RESULTS | | | |
|----------------------|----------------------|--------------------|------------|-----------|-----------------|
| | | n. | Positive | Negative | Sensitivity (%) |
| First attack : | - Less than 3 months | 64 | 53 | 11 | 83 |
| | - More than 3 months | 29 | 27 | 2 | 93 |
| Relapse : | - Less than 3 months | 15 | 13 | 2 | 87 |
| | - More than 3 months | 10 | 9 | 1 | 90 |
| Chronic tuberculosis | | 12 | 11 | 1 | 92 |
| Total | | 130 | 113 | 17 | 87% |

Table VI : TB-CHECK-1 results according to clinical recordings

b) Specificity

From results in Table II, the specificity of the test was calculated as follows :

$$\begin{aligned}
 \text{Specificity} &= \frac{\text{negatives with TB-CHECK-1}}{\text{negatives by clinical status}} \times 100 \\
 &= \frac{(11+75+58+76)}{(15+79+60+83)} \times 100 \\
 &= \frac{220}{237} \times 100 = 92.8\%
 \end{aligned}$$

c) Overall agreement

From results summarized in Table II, the overall agreement of the test regarding the clinical status was calculated as follows :

$$\begin{aligned}
 \text{Correlation} &= \frac{\text{true positives} + \text{true negatives}}{\text{total cases}} \times 100 \\
 &= \frac{(113+20) + (11+75+58+76)}{391} \times 100 \\
 &= \frac{353}{391} \times 100 = 90\%
 \end{aligned}$$

d) Cross-reaction

As shown in table II, TB-CHECK-1 is highly cross-reacting with other mycobacteria infections (groupe 2 : active non tuberculosis mycobacteriosis).

e) Reproducibility

Intra-assay

Within run precision was determined by using 3 replicates of four positive (different antibodies level) specimens and one negative specimen. The negative and positives values were correctly identified 100% of time.

Inter-assay

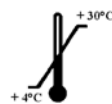
Between run precision was determined by using the same four positive and negative specimens as for intra –assay with five different lots of reaction device. The negative and positive values were correctly identified 100% of time.

IX- LIMITATIONS OF THE TEST

- 1- As for any *in vitro* diagnostic procedure, the physician should evaluate data obtained by the use of the test in light of other clinical information.
- 2- Very early TB infections could lead to false negative results, due to the low concentration of anti-TB antibodies in the serum, plasma or whole blood samples.
- 3- TB-CHECK-1 is showing high cross-reaction with other mycobacteria and such cases should be identified before testing.
- 4- A positive result does not exclude the presence of other pathogens.

X- BIBLIOGRAPHY

- 1- **Grange J.M.** (1984), "The humoral immune response in Tuberculosis : its nature, biological role and diagnostic usefulness." In : Fow W., Grosset J., Styblo K. (eds) - Advances in tuberculosis research vol.21 Karger - Basel 1:78.
- 2- **Krambovitis E.** (1987), "Serodiagnosis of Tuberculosis in perspective" - Serodiagn. Immunoth 1 : 7-19.
- 3- **Daniel T.M. and Debanne S.M.** (1987), "The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by ELISA" - Am. Rev. Respir. Dis. 135 : 1137-1151.
- 4- **Toman K.** (1981) "Sensitivity, specificity and predictive value of diagnosis tests" - Bull. Int. Union Tuberc. 56 : 18/28.



Temperature limitations



Consult operating instructions



Do not re-use



For *in vitro* diagnostic use

Manufactured by VEDALAB - France