

MÉTODO

Teste imunocromatográfico.

FINALIDADE

O TB Ag MPT64 TEST BIOEASY é um teste qualitativo de identificação imunocromatográfica rápida para o complexo *M. tuberculosis* que utiliza anticorpo monoclonal anti-MPT64. Este kit de teste pode ser facilmente utilizado para identificação rápida do complexo *M. tuberculosis* em combinação com sistemas de cultura sólida (colônia e fluido de condensação) e líquida sem qualquer complexidade técnica em laboratórios clínicos. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

FUNDAMENTO

O TB Ag MPT64 TEST BIOEASY possui anticorpos monoclonais fixados na membrana de nitrocelulose como material de captura (Linha Teste) e anticorpos conjugados com partículas de ouro capazes de reconhecer o epitopo do MPT64 são utilizados para detecção e captura do antígeno em um ensaio do tipo sanduíche.

O dispositivo de teste TB Ag MPT64 TEST BIOEASY possui uma letra "T" e uma letra "C", na superfície do cassette indicando respectivamente a Linha Teste e a Linha Controle. Tanto a Linha Teste quanto a Linha Controle, não são visíveis na janela de resultados antes que se aplique qualquer amostra. A Linha Controle "C" é usada para controle do procedimento. Esta deverá aparecer sempre que o procedimento do teste for realizado adequadamente. Enquanto a amostra aplicada à cavidade do dispositivo "S" flui através da membrana, o anticorpo-conjugado de ouro coloidal liga-se ao antígeno MPT64 presente na amostra formando um complexo antígeno-anticorpo conjugado. Este complexo ao passar pela região de teste se liga aos anticorpos monoclonais fixados, produzindo uma linha colorida. Na ausência do MPT64 na amostra testada, não ocorrerá formação da Linha Teste.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Tuberculose é uma doença altamente infecciosa causada pela *Mycobacterium tuberculosis* e é potencialmente fatal em humanos. A caracterização bioquímica, imunológica e molecular da *Mycobacterium tuberculosis* levou à identificação de diversos antígenos que podem ser úteis no desenvolvimento de métodos de diagnóstico para diferenciar o complexo *M. tuberculosis* de outras bactérias não tuberculosas (bacilos MOTT). Sabe-se que a *M. tuberculosis* secreta mais de 33 proteínas diferentes. Uma das proteínas predominantes, a MPT64 foi encontrada somente em culturas do complexo da *M. tuberculosis*. Diante disto, foi desenvolvido um ensaio simples e rápido, utilizando anticorpos monoclonais anti-MPT64 para a diferenciação rápida entre o complexo *M. tuberculosis* e bacilos MOTT.

PROPRIEDADES

- Teste simples
- Detecção precisa
- Resultados instantâneos

IDENTIFICAÇÃO E CONSERVAÇÃO

Dispositivos de teste selados em uma bolsa de alumínio com dessecante. Pode-se conservar a qualquer temperatura entre 15 e 30 °C (não é recomendável armazenamento em refrigerador). A data de validade encontra-se impressa na embalagem e no rótulo do produto.

CUIDADOS ESPECIAIS

Somente para o diagnóstico *in vitro*. Utilizar unicamente para teste de identificação rápida do complexo *M. tuberculosis* de culturas líquidas ou sólidas. Não comer ou fumar durante o manuseio das amostras. Lavar as mãos após o procedimento. Evitar respingos ou formação de aerossol. Descontaminar e descartar todas as amostras, kits de reação e materiais potencialmente contaminados como se fosse lixo contaminado, em recipiente próprio. Não usar o kit se a embalagem estiver danificada ou o selo estiver violado.

PRECAUÇÕES

Para obter resultados seguros seguir atentamente as instruções de uso. Todas as amostras devem ser tratadas como sendo potencialmente infecciosas. Somente abrir a embalagem do dispositivo do teste no momento de sua utilização. Executar o teste imediatamente depois de retirar o dispositivo da embalagem. Não reutilizar o dispositivo teste. Antes de iniciar a preparação para o ensaio, deixar que todos os componentes do kit e amostras atinjam a temperatura ambiente, pois reagentes e/ou amostras em temperaturas baixas podem reduzir a funcionalidade do mesmo. Recomendase deixar sob temperatura ambiente por cerca de 20 a 30 minutos antes da execução do ensaio. Não utilizar o teste após a data de vencimento impressa na embalagem. O prazo de validade do kit está indicado no rótulo e na embalagem primária do dispositivo. Não trocar os componentes do kit. Não misturar números diferentes de lotes. O tampão diluente contém baixa concentração de azido de sódio como conservante que é tóxico e deve ser manipulado com cuidado para se evitar contato com a pele ou ingestão. Os dispositivos de teste são sensíveis à umidade e ao calor.

ESTABILIDADE

O teste foi desenvolvido para ser conservado em temperatura entre 15 a 30 °C.

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto e na embalagem, quando conservados nas condições recomendadas. Não congelar o kit, pois poderá causar mau funcionamento. O fabricante garante a qualidade do produto se este for conservado nas condições estabelecidas e na sua embalagem original.

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

- Cronômetro
- Swab
- Tubo de coleta
- Micropipeta

PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

- **Cultura líquida:** 100µl de amostra obtida de cultura líquida processada através de amostra de escarro pode ser aplicada diretamente à cavidade do dispositivo "S" sem preparação prévia.

- **Cultura sólida:**

Colônia: Para a preparação de amostra de cultura sólida, 3 a 4 colônias devem ser suspensas em 100µl de tampão de extração incluso no teste.

Fluido de condensação: Se houver fluido de condensação em tubos de ágar inclinados, 100 µl podem ser aplicados diretamente na cavidade do dispositivo "S" ou colônias podem ser suspensas neste fluido de condensação ao invés de tampão de extração.

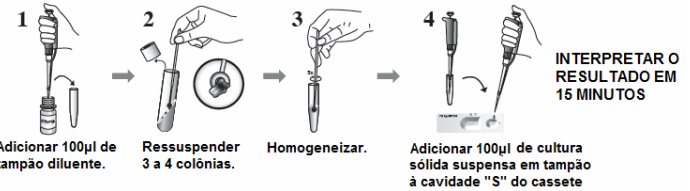
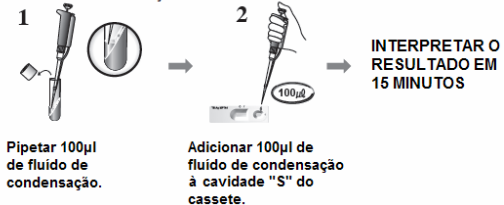
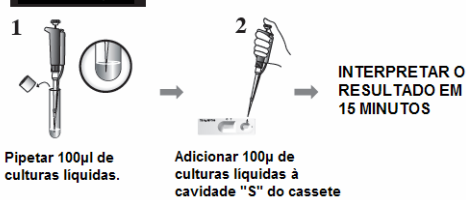
PROCEDIMENTO DO TESTE

Ler o procedimento por inteiro e cuidadosamente antes de iniciar o teste.

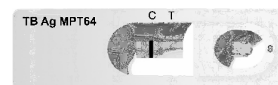
- 1) Remover o dispositivo de teste da embalagem de alumínio e colocar sobre uma superfície seca e plana.
- 2) Adicionar 100µl de cultura líquida ou 100µl de cultura sólida suspensa em tampão na cavidade "S" do dispositivo.
- 3) Assim que o teste começar a reagir, será possível observar uma cor se movendo ao longo da janela de resultados localizada ao centro do dispositivo de teste.
- 4) Interpretar o resultado do teste em 15 minutos. Não interpretar os resultados após 15 minutos.

CULTURAS SÓLIDAS

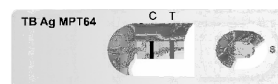
COLÔNIA


FLUIDO DE CONDENSÇÃO

CULTURAS LÍQUIDAS

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

NÃO REAGENTE: Quando aparecer somente uma linha colorida na janela de resultados, a linha controle "C" como indicado na ilustração. Esta linha deve aparecer em todos os testes.



REAGENTE: Quando aparecer duas linhas coloridas na janela de resultados, a linha controle "C" e a linha teste "T" respectivamente indicado na ilustração.



Nota: A intensidade da cor das linhas "C" e "T" podem ser diferentes, ou seja, a linha "C" poderá ser mais fraca que a linha "T" ou vice-versa. Considerar o resultado REAGENTE em qualquer situação.

INVÁLIDO: Quando a linha controle "C" não aparecer na janela de resultados dentro de 15 a 20 minutos. O Teste deve ser considerado INVÁLIDO. Repetir o teste com um novo dispositivo e com uma nova amostra.



LIMITAÇÕES

Embora o TB Ag MPT64 TEST BIOEASY seja muito preciso na detecção do antígeno MPT64, uma baixa incidência de resultados falsos pode ocorrer. Outros testes clínicos disponíveis são requeridos se os resultados obtidos forem questionáveis.

Um diagnóstico clínico definitivo não deve ser baseado nos resultados de um único teste, mas deve somente ser feito pelo Médico após a avaliação de todas as descobertas clínicas e laboratoriais.

DESEMPENHO DO TESTE

Em comparação com métodos de cultura o TB Ag MPT64 TEST BIOEASY obteve uma sensibilidade de 98,6% (216/219) e especificidade de 100 % (260/260), com uma concordância total de 99,37% (476/479).

Sensibilidade

Teste	Método de Cultura		
	<i>M.tuberculosis</i> isolados de amostras clínicas (3% meio Ogawa)	<i>M.tuberculosis</i> isolados de amostras clínicas (MGIT)	Total
TB Ag MPT64 Test Bioeasy	Reagente	158	216
	Não Reagente	1	3
	Total	159	219
Sensibilidade (%)		98,6% (216/219)	

Especificidade

Teste		Método de Cultura				Total
		Bactérias	Fungos	Micobactérias não tuberculosas	Micobactérias não tuberculosas isoladas de amostras clínicas	
TB Ag MPT64 Test Bioeasy	Reagente	0	0	0	0	0
	Não Reagente	137	15	57	51	260
	Total	137	15	57	51	260
Especificidade (%)		100% (260/260)				

REAÇÃO CRUZADA

O TB Ag MPT64 TEST BIOEASY foi testado em 57 amostras contendo micobactérias não tuberculosas e em 152 amostras contendo outras bactérias, obtendo somente resultados negativos. Neste caso o teste mostrou uma especificidade de 100%, não apresentando assim nenhuma reação cruzada.

APRESENTAÇÃO DO KIT

- 1) Dispositivo de teste – 1
 - 2) Tampão diluente – 1 x 5 mL
 - 3) Instrução de uso – 1
- Nº. de testes: 1, 5, 10, 20, 25, 30, 40, 50 ou 100.

SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE

Para esclarecimentos de dúvidas do cliente quanto ao produto:
 Telefax (31) 3048-0008
 E-mail: bioeasy@bioeasy.com.br
 Data de fabricação, data de validade, nº do lote vide rótulo do produto.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Cloning and B-cell-epitope mapping of MPT64 from Mycobacterium tuberculosis H37Rv. Infect Immun. 1994 May;62(5):2058-64
- 2) Delayed-type hypersensitivity responses to ESAT-6 and MPT64 from Mycobacterium tuberculosis in the guinea pig. Infect Immun. 1998 Jul; 66(7):3454-6.
- 3) Expression of Mycobacterium tuberculosis MPT64 in recombinant Myco. smegmatis: purification, immunogenicity and application to skin tests for tuberculosis. Clin Exp Immunol. 1996 Feb;103(2):226-32.
- 4) Mapping of the delayed-type hypersensitivity-inducing epitope of secreted protein MPT64 from Mycobacterium tuberculosis. Infect Immun. 1995 Dec;63(12):4613-8.
- 5) Mutations including IS6110 insertion in the gene encoding the MPB64 protein of Capilia TB-negative Mycobacterium tuberculosis isolates. J Clin Microbiol. 2004 Jan;42(1):390-2.
- 6) Simple and rapid identification of the Mycobacterium tuberculosis complex by immunochromatographic assay using anti-MPB64 monoclonal antibodies. J Clin Microbiol. 1999 Nov;37(11):3693-7.

PRODUZIDO PARA

Bioeasy Diagnostica Ltda, Avenida Barão Homem de Melo, 567. Nova Granada, Belo Horizonte-MG Brasil. CEP: 30.431-285 Telefax: (031) 3048-0008. CNPJ: 02.719.715/0001-24. Autorização do MS 1037466 - Farmacêutico Responsável:

Vinicius Silva Pereira CRF-MG 19800. Produzido por S.D., Inc. 573-34 Pajang-dong, Jangan-ku, Suwon-si,kyonggi-do, Korea. Registro MS N°. 10374660114.

TERMO DE GARANTIA

A Bioeasy Diagnóstica Ltda se responsabiliza por este kit diagnóstico, desde que o mesmo esteja com sua integridade física inabalada e dentro do prazo de validade, seguido de comprovação pela assessoria técnica de que não houve falhas na execução, manuseio ou conservação deste produto. A Bioeasy Diagnóstica Ltda e seus distribuidores não se responsabilizam por falhas no desempenho do kit sob essas condições.