

**MÉTODO**

Teste imunocromatográfico.

**FINALIDADE**

O TB Ag MPT64 TEST BIOEASY é um imunoenensaio cromatográfico rápido, para identificação qualitativa do complexo *M. tuberculosis* que utiliza o anticorpo monoclonal anti-MPT64. Este kit 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.

Indicado para uso profissional.

Somente para o diagnóstico de uso *in vitro*.

**FUNDAMENTO**

O TB Ag MPT64 TEST BIOEASY possui anticorpos monoclonais fixados na membrana de nitrocelulose como material de captura (Linha Teste). 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 cassete indicando respectivamente a Linha Teste e a Linha Controle. Tanto a Linha Teste "T" quanto a Linha Controle "C", não são visíveis na janela de resultados antes que se aplique qualquer amostra. A Linha Controle "C" é usada para controle do procedimento. Esta linha deverá aparecer sempre que o procedimento do teste for realizado adequadamente. Enquanto a amostra aplicada à cavidade "S" do dispositivo 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 afixados, produzindo as linhas coloridas. Na ausência do MPT64 na amostra testada, não ocorrerá formação da Linha Teste "T".

**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 entre o complexo *M. tuberculosis* e bacilos MOTT.

**PROPRIEDADES**

Teste simples  
Detecção precisa  
Resultados instantâneos  
Fácil interpretação

**IDENTIFICAÇÃO E CONSERVAÇÃO**

Dispositivos de teste selados em uma bolsa de alumínio com dessecante.

Deve-se conservar sob temperatura entre 15 e 30°C (não armazenar em refrigerador).

A data de validade encontra-se impressa na embalagem e no rótulo do produto.

**CUIDADOS ESPECIAIS**

Somente para o diagnóstico de uso *in vitro*.

Utilizar unicamente para teste de identificação rápida do complexo *M. tuberculosis* de culturas líquidas ou sólidas.

Não comer, beber ou fumar durante o manuseio das amostras.

Calçar luvas de proteção durante a manipulação das amostras e lavar as mãos após o procedimento.

Evitar respingos ou formação de aerossol.

Descartar todas as amostras, componentes do kit e materiais potencialmente contaminados como se fosse lixo contaminado, em recipiente próprio.

Não usar o kit se a embalagem estiver danificada ou o lacre estiver violado.

**PRECAUÇÕES**

Para obter resultados seguros seguir atentamente as instruções de uso.

Todas as amostras devem ser tratadas como sendo potencialmente infecciosas.

Abriir a embalagem do dispositivo de teste somente no momento de sua utilização.

Executar o teste imediatamente após retirar o dispositivo da embalagem.

Não reutilizar o dispositivo de teste.

Antes de iniciar a preparação para o ensaio, deixar que as amostras atinjam a temperatura ambiente, pois amostras em temperaturas baixas podem reduzir a funcionalidade do kit. Recomenda-se 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 sob temperatura entre 15 e 30°C.

Os reagentes são estáveis até a data de validade impressa no rótulo do produto, 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:**

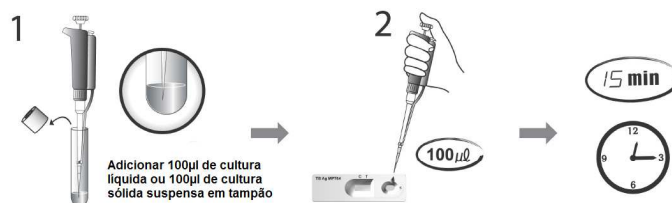
Colônia: Para a preparação de amostra de cultura sólida, 3 a 4 colônias devem ser suspensas em 200µl de tampão de extração incluso no teste.

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**

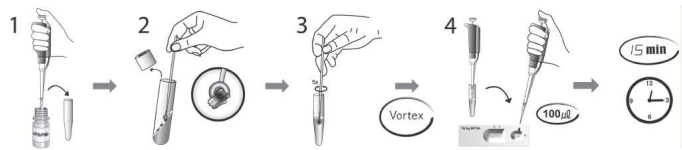
Ler o procedimento por inteiro e cuidadosamente antes de iniciar o teste.

- 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 o resultado após 15 minutos.

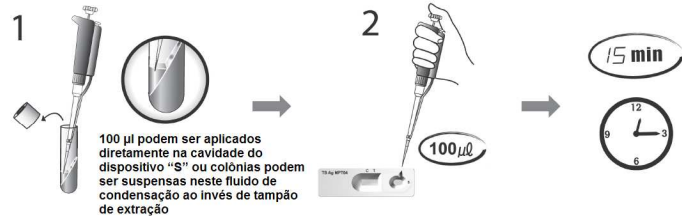
**CULTURAS LÍQUIDAS**

## CULTURAS SÓLIDAS

### COLÔNIAS



### FLUIDO DE CONDENSAÇÃO



## 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.

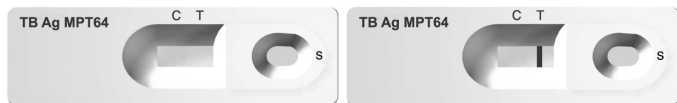


**REAGENTE:** Quando aparecer duas linhas coloridas na janela de resultados, a Linha Controle "C" e a Linha Teste "T" respectivamente indicado na ilustração.



**Nota:** A intensidade da cor das linhas "C" e "T" pode ser diferente, ou seja, a cor da Linha Controle "C" poderá ser mais forte que a Linha Teste "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 minutos ou quando somente a Linha Teste "T" aparecer na janela de resultados dentro de 15 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 ser feito somente pelo Médico e após 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
<b>Sensibilidade (%)</b>		<b>98,6% (216/219)</b>	

### Especificidade

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

### Precisão

A precisão inter testes foi determinada utilizando-se 3 replicatas de 8 diferentes amostras contendo diferentes concentrações de anticorpos. Os resultados negativos e positivos foram corretamente identificados em 100% das vezes.

A precisão entre testes foi determinada utilizando-se 8 diferentes amostras contendo diferentes concentrações de anticorpos em 3 replicatas com 3 diferentes lotes. Novamente os resultados negativos e positivos foram corretamente identificados em 100% das vezes.

### Valores esperados

No estudo de avaliação do TB Ag MPT64 TEST BIOEAY, em combinação com sistemas de cultura com base em meios líquidos, foram observadas bandas fortes positivas contra as bactérias pertencentes ao complexo *M. tuberculosis*: *Mycobacterium tuberculosis*, *M. africanum* e *M. bovis*, enquanto que nenhum sinal positivo foi observado para os bacilos MOTT testados.

## APRESENTAÇÃO DO KIT

- 1) Dispositivo de teste – 1
  - 2) Tampão diluente – 1
  - 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: 0800 113262

E-mail: [sac.brasil@alere.com](mailto:sac.brasil@alere.com)

Data de fabricação, data de validade, nº. do lote, vide rótulo do produto.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.

## DISTRIBUIÇÃO/ FABRICAÇÃO

Distribuído por: **ALERE S/A.**

Rua dos Pinheiros, 498, 7º andar, bairro Pinheiros. São Paulo, SP.

CEP: 05.422-000. CNPJ: 50.248.780/0001-61

Registro MS. Nº: **10071770704**

Produzido por **Standard Diagnostic Inc** 156-68, Hagal-Dong, Giheung-Ku, Yongin-Si, Kyonggi-Do, Republic of Korea.

Atualizada em 14/06/2013