

P211009**EZER™ TB MPT64****USO PREVISTO**

El dispositivo de prueba rápida de antígeno EZER™ TB MPT64 es un ensayo inmunocromatográfico (ICA) que utiliza anticuerpos monoclonales anti-MPT64 para la detección cualitativa directa del antígeno del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC). El dispositivo detectará las siguientes especies del MTBC:

M. tuberculosis, *M. bovis*, *M. africanum* y *M. microti*. El resultado positivo de la prueba indicará la presencia del complejo *M. tuberculosis* secretor MPT64 en el medio de cultivo.

ANTECEDENTES

La tuberculosis es una enfermedad crónica causada por la infección por *Mycobacterium tuberculosis*. El número de nuevos casos de TB y de muertes por TB se estima en unos 10,0 millones (2017) y 1,6 millones (2017) respectivamente. Hubo casos en todos los países y grupos de edad, pero en general el 90% eran adultos (de edad ≥ 15 años), el 9% eran personas que viven con el VIH (72% en África) y dos tercios se encontraban en ocho países: India (27%), China (9%), Indonesia (8%), Filipinas (6%) y Pakistán (5%), Nigeria (4%), Bangladesh (4%) y Sudáfrica (3%). Estos y otros 22 países de la lista de la OMS de 30 países con alta carga de tuberculosis representaron el 87% de los casos mundiales.4 Sólo el 6% de los casos mundiales se produjeron en la Región Europea de la OMS (3%) y en la Región de las Américas de la OMS (3%).

PRINCIPIO

Esta metodología está destinada a detectar la proteína MPT64 secretada por el complejo *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* y *M. microti*) mientras se cultiva y, sin embargo, la micobacteria no tuberculosa (NTM) no produce MPT64.

El dispositivo de prueba ICA para MPT64 consiste en un casete de plástico con una almohadilla de muestra, una almohadilla de reactivo, una membrana de nitrocelulosa y una almohadilla absorbente. En el portaobjetos hay un pozo de muestra donde se aplica la muestra y dos zonas de reacción de prueba donde se observan los resultados de la prueba y del control como bandas de color rosa a púrpura rojizo. Se aplica una muestra de 100µL en el pozo de prueba, y ésta fluye a través de la membrana de nitrocelulosa lateralmente. Los anticuerpos monoclonales contra MPT64, que están conjugados con oro coloidal y están inmovilizados en la membrana, son rehidratados por el líquido de la muestra y reaccionan con el antígeno MPT64 si está presente en la muestra. El complejo MPT64-anticuerpo fluye entonces lateralmente y es capturado por la banda de prueba, donde el anticuerpo anti-MPT64 está presente, produciendo una banda de color.

Un segundo anticuerpo de inmunoglobulina G de ratón inmovilizado en la banda de control reacciona con el oro libre

anticuerpo conjugado cuando la muestra sigue migrando a través de la zona de la banda de control y da otra banda de color púrpura rojizo. La prueba se lee a los 15 minutos o hasta 60 minutos después de añadir la muestra. Si la banda de control es positiva, indica la presencia del complejo *M. tuberculosis*. El color de la banda de control indica que todas las reacciones de la prueba se realizaron satisfactoriamente y deben ser positivas en todas las pruebas.

REACTIVOS**P211109 EZER™ TB MPT6440 dispositivos de prueba**

Cada dispositivo de prueba contiene un anticuerpo monoclonal anti MPT64 marcado con oro coloidal y una línea de control de anticuerpos anti especies.

Materiales necesarios pero no proporcionados : Pipeta, puntas de pipeta, temporizador.

Materiales necesarios pero vendidos por separado : M221105 EZER™ TB MPT64 Tampón de extracción.

Advertencias y precauciones

1. Para uso diagnóstico in vitro
2. Puede haber microorganismos patógenos en las muestras clínicas. Todas las muestras y los elementos contaminados relacionados deben manipularse, almacenarse y eliminarse siguiendo las "precauciones estándar" y las directrices institucionales.
3. Este kit no puede diferenciar cada uno de los *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* y *M. microti* de los demás, incluso si los resultados de la prueba del complejo *M. tuberculosis* son positivos.
4. No utilice los componentes del kit más allá de la fecha de caducidad.
5. Aplique la precaución universal al realizar la prueba.
6. La placa de ensayo debe utilizarse inmediatamente después de abrir el embalaje. Cuando absorbe humedad, la calidad se deteriora y no se puede obtener un resultado preciso.
7. No reutilice el dispositivo.
8. Utilice una punta de pipeta limpia y estéril para cada muestra.
9. Sólo la suspensión de BFA (en tampón de extracción) o el cultivo positivo de BFA en medios líquidos pueden aplicarse como muestras. No se pueden utilizar directamente como especímenes muestras clínicas como fluidos corporales humanos, tejidos y fluidos de lavado bronquial.
10. Si la prueba no es válida, hay que tener en cuenta la posible manipulación incorrecta, el procedimiento de funcionamiento inexacto o la calidad del dispositivo. Repita la prueba con un nuevo dispositivo asegurándose de que el procedimiento de prueba se ha seguido con exactitud.

11. Lea el resultado a los 15 min, o hasta los 60 min. No lea el resultado a más de 60 min, porque el resultado podría alterarse si el aparato se seca.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Los dispositivos de prueba deben almacenarse a 2~30°C. NO CONGELAR. Los dispositivos deben estar a temperatura ambiente en el momento de la prueba.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Utilice como muestra una suspensión de bacterias cultivadas en el medio para AFB o un líquido de cultivo bacteriano. No se pueden utilizar directamente muestras clínicas como un fluido corporal humano, tejido o líquido de lavado bronquial, ya que son como muestras.

Preparación de la muestra a partir de un cultivo positivo

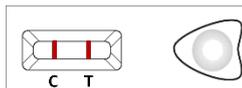
- Preparación de la muestra de MEDIOS SÓLIDOS※
 - Seleccione las colonias que crecen en medios sólidos durante 2~4 semanas.
 - Confirmar la presencia de AFB mediante la tinción de ácido-resistencia.
 - Dispensar 0,2mL de tampón de extracción en un tubo.
 - Recoger colonias de bucle de 1µL.
 - Suspender las colonias en la solución tampón del tubo.
 - Cerrar bien el tubo y agitar completamente la suspensión.
 - Utilizar la suspensión como muestra.
- Preparación de la muestra de MEDIOS LÍQUIDOS※
 - Confirmar la presencia de AFB mediante la tinción de ácido-resistencia.
 - Mezclar el tubo de cultivo positivo invirtiéndolo.
 - Utilizar la suspensión como muestra.
- Los medios listados a continuación han sido probados sin interferencias con el resultado de la prueba EZER™ TB MPT64
 - Medios a base de huevo : 3% medios Ogawa, 2% medios Ogawa, 1% medios Ogawa, medios Lowenstein-Jensen(LJ).
 - Medios de agar : Medios de agar Middleblook 7H10, medios de agar Middleblook 7H11.
 - Medios líquidos : Medios líquidos Middleblook 7H9, medios líquidos de Dubo, medios de Kirchner, medios de Sauton, medios BD BBL™ MGIT™.

PROCEDIMIENTO

- Saque el dispositivo de prueba EZER™ TB MPT64 de su bolsa de aluminio inmediatamente antes de usarlo.
- Coloque el dispositivo en una superficie plana.
- Aplicar cuidadosamente 100µL de muestra de cultivo positivo de AFB en el pozo de la muestra.
- Lea los resultados a los 15 min o hasta los 60 min. Los resultados positivos pueden ser reportados tan pronto como 5 min mientras las líneas de prueba y control son visibles.
- Lea en una zona bien iluminada y registre el resultado de la prueba.

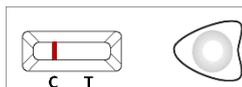
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Deje que las muestras reaccionen de acuerdo con el procedimiento y lea las líneas rojas y moradas que aparecen en la zona de lectura.



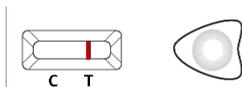
Positivo

Aparecen dos líneas rojas. Una línea roja aparece en la región de control (C), y una línea roja en la región de prueba (T). Esto indica que la muestra contiene una cantidad detectable de antígeno MPT64. El tono de color puede variar, pero debe considerarse positivo siempre que haya incluso una línea tenue.



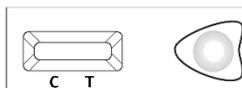
Negativo

Sólo aparece una banda rojiza en la región de control del dispositivo. No se ve ninguna línea rojiza junto a la "T" de prueba. Esto indica que no hay proteína MPT64 detectable en la muestra.



Resultado inválido

No aparece ninguna línea roja en la región de control (C). La prueba no es válida aunque haya una línea en la región (T). Revise los procedimientos de prueba y repita la prueba utilizando un nuevo dispositivo de prueba rápida.



INFORME DE RESULTADOS

Prueba positiva : Debe notificarse como complejo MTb (MTbc).

Prueba negativa : Debe ser reportada como Bacilos Ácido-Resistentes, no-MTbc.

Prueba inválida : No informar de los resultados.

CONTROL DE CALIDAD

Las pruebas de los controles positivos y negativos deben realizarse inmediatamente después de la recepción de los dispositivos de prueba rápida de antígeno EZER™ TB MPT64. Esto permite comprobar las condiciones de envío adecuadas.

Control interno : Cada antígeno EZER™ TB MPT64 rápido

Los dispositivos de prueba contienen controles internos/de procedimiento. La aparición de una línea de control en la posición de Control "C" valida la función adecuada del reactivo y asegura que se ha seguido el procedimiento de prueba correcto.

Control positivo :

- Preparar muestras de aislados clínicos probados de *M. tuberculosis*.
- Suspender 1µL (equivalente a la cantidad de un microbucle de platino de 1mm de diámetro) de una colonia de aislado de control positivo que haya crecido en medio sólido en el

tampón de extracción de muestras

- Un cultivo líquido del aislado de control positivo. (equivalente a un estándar McFarland No.1 de 3 a 6 x 10⁷CFU/mL)

Control negativo✖:

- Medios líquidos no inoculados
 - Tampón de extracción de muestras
 - Micobacterias no tuberculosas como *M. smegmatis* o *M. gordonae*
- ✖ Aplicar sólo tampón de extracción de muestras o medios líquidos no inoculados para el control negativo.
- ✖ El agua y otros reactivos pueden tener interferencia con el resultado de la prueba.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Límite mínimo de detección

El límite mínimo de detección es de 1,2 x 10⁶CFU/mL.

Evaluación de la reactividad cruzada

Se han evaluado las siguientes micobacterias no tuberculosas y *Staphylococcus aureus* y no han revelado ninguna reactividad cruzada con la prueba :

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

Reactividad con cepas estándar del complejo *Mycobacterium tuberculosis* Cepas que demuestran la producción de MPT64

Se observó una reacción con las siguientes 5 cepas.

<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	<i>M. tuberculosis</i> H37Ra
<i>M. africanum</i>	<i>M. microti</i>
<i>M. bovis</i>	

Estudios clínicos

La prueba EZER™ TB MPT64 se comparó con un método de ensayo inmunocromatográfico (TAUNS Capilia™ TB- Neo) en un centro clínico de Taiwán un total de 60 muestras positivas al frotis de AFB y al instrumento MGIT 960. Capilia™ TB-Neo identificó 26 como MTbc y 34 como NTM. A continuación se muestra una comparación de estos resultados en la Tabla 1.

Tabla 1: Resumen del rendimiento de la prueba EZER™ TB MPT64 en comparación con Capilia™ TB-Neo con acuerdos porcentuales

		Capilia™ TB-Neo	
		+	-
EZER™ TB MPT64	+	26	0
	-	0	34

Porcentaje global de acuerdo : 100%

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Utilizó los siguientes medios para la AFB, y no se observó ninguna interferencia en los resultados de las pruebas por parte de los medios :

- Medios a base de huevo : Medios de Ogawa al 3%, medios de Ogawa al 2%, medios de Ogawa al 1%, medios de Lowenstein-Jensen (LJ)
- Medio de agar : Medio de agar Brook 7H10, medio de agar Middle Brook 7H11
- Medios líquidos : Medios líquidos de Brook 7H9, medios líquidos de Dubos, medios de Kirchner, medios de Sauton.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El resultado de esta prueba no descarta la presencia de otras infecciones micobacterianas o mixtas.
- Esta prueba no puede diferenciar los organismos del complejo *M. tuberculosis* (MTbc).
- Un resultado negativo no siempre descarta la posibilidad de una infección por MTbc. El dispositivo no puede detectar el MTbc cuando se produce una mutación en el gen MPT64. Los resultados de la prueba deben utilizarse junto con la información disponible de la evaluación clínica del paciente y otros procedimientos de diagnóstico.
- Algunas subcepas de *M. bovis* BCG entre el complejo *M. tuberculosis* no producen antígeno MPT64 y, por lo tanto, darán un resultado negativo con el dispositivo.
- Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, los resultados de la prueba deben correlacionarse siempre con los hallazgos clínicos. Los resultados de la prueba deben interpretarse dentro del contexto epidemiológico, clínico y terapéutico.
- Cualquier modificación del procedimiento anterior y/o el uso de otros reactivos podría invalidar el procedimiento de prueba.
- No compare la intensidad de la línea de prueba y la línea de control para determinar la concentración de la proteína MPT64 en la muestra de prueba.

DISPONIBILIDAD

Producto	Cat. No.	Contenido
EZER™ TB MPT64	P211009	40 Dispositivo de prueba
EZER™ TB MPT64 plus	P211010	20 Dispositivo de prueba, 20 Tubo de extracción
Extracción EZER™ TB MPT64	M221105	Tampón de extracción, 10mL x 2

REFERENCIAS

- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. 2008. Morbidity and Mortality Weekly Report. Vol. 57, No.11.
- Organización Mundial de la Salud. INFORME MUNDIAL SOBRE LA TUBERCULOSIS 2018, OMS/CDS/TB/2018.20
- Kent, P.T., y G.P. Kubica. 1985. Public health mycobacteriology : a guide for the level III laboratory. U.S. Department of Public Health and Human Services, Atlanta, GA.

4. Organización Mundial de la Salud. El uso del medio líquido para el cultivo y la DST. OMS
<http://www.who.int/tb/dots/laboratory/policy/en/index3.html>
5. Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio. 2005. Guía aprobada M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections (Protección de los trabajadores de laboratorio frente a las infecciones adquiridas en el trabajo), 3ª edición. CLSI, Wayne, Pa.
6. Garner, J.S. 1996. Comité Asesor de Prácticas de Control de Infecciones Hospitalarias, Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Guideline for isolation precautions in hospitals.
7. Infect. Control Hospitalario Epidemiol. 17:53-80.
8. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed., Washington, D.C. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
9. Directiva 2000/54/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de septiembre de 2000, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo (séptima directiva específica con arreglo al apartado 1 del artículo 16 de la Directiva 89/391/CEEP). Diario Oficial L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
10. 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.

Index of Symbols

	Attention, see instructions for use		Tests per kit		Authorized Representative
	For <i>in vitro</i> diagnostic use only		Use by		Do not reuse
	Store between 2~30°C		Lot Number		Catalog #



Lotus NL B.V.

Koningin Julianaplein 10, le Verd, 2595AA,
La Haya, Países Bajos.



HANGZHOU GENESIS

BIODETECCIÓN Y BIOCONTROL CO, LTD.

ADD : NO.139, St.10th (East), Hangzhou Economic &
Technology Development Zone. Hangzhou,
provincia de Zhejiang, China, 310018

T E L : +86-571-87818163

FA X : +86-571-8782-4695

Web : <http://www.hgb.com.cn/En>