

TUBERCOLOSI

Per uso diagnostico *in Vitro*

Test Immunocromatografico su membrana per la determinazione di anticorpi anti-*M. tuberculosis* su siero, plasma e sangue intero

I. DESTINAZIONE D'USO

TUBERCOLOSI è un test immunocromatografico a flusso laterale per la determinazione simultanea e la differenziazione degli anticorpi IgG e IgM specifici per il *Mycobacterium Tuberculosis* (M.TB) in campioni di siero umano, plasma umano o sangue intero. Serve per lo screening e come aiuto nella diagnosi dell'infezione da *M. Tuberculosis*. Ogni risultato positivo deve essere confermato da metodi alternativi e risultati clinici.

II. SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

La Tuberculosis è una malattia cronica, infettiva causata principalmente da *M.TB hominis* (bacillo di Koch), occasionalmente da *M.TB bovis*. I polmoni sono l'obiettivo primario, anche se qualsiasi organo può essere infettato.

Il rischio d'infezione da TBC è diminuito in modo esponenziale nel XX secolo. Tuttavia la recente comparsa di ceppi resistenti ai farmaci, soprattutto nei pazienti con AIDS, ha riaperto l'interesse verso la Tuberculosis. L'incidenza d'infezione è stata stimata in 8 milioni di casi all'anno, con un tasso di mortalità pari a 3 milioni/anno. La mortalità superava il 50% in alcuni paesi africani con un alto tasso di HIV.

Per la diagnosi della Tuberculosis attiva, il metodo tradizionale prevede l'analisi complessiva del sospetto clinico, dei referti radiografici e la conferma di laboratorio successiva all'esame dell'espettorato e la coltura. Tuttavia questi metodi perdono in sensibilità e richiedono molto tempo, in particolare non sono adatti per quei pazienti che non riescono a produrre una quantità sufficiente di espettorato, uno striscio negativo o pazienti con sospetta tubercolosi extra-polmonare.

Il kit TUBERCOLOSI Mascia Brunelli è un test rapido sviluppato per superare questi ostacoli. Il test rileva le IgM e le IgG anti-M.TB nel siero, plasma o sangue intero in 15 minuti. Un risultato positivo per le IgM indica un'infezione tubercolare recente, mentre un risultato positivo per le IgG suggerisce un'infezione precedente o cronica. Utilizzando degli antigeni M.TB specifici, il test determina le IgM anti M.TB anche in pazienti vaccinati con BCG (Bacillo Calmette-Guerin). Inoltre il test non richiede strumentazione costosa e ingombrante.

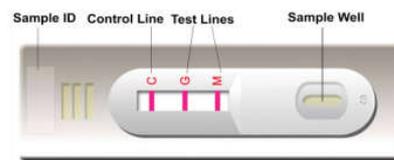
III. PRINCIPIO DEL TEST

Il kit TUBERCOLOSI è un test immunocromatografico a flusso laterale. La strip all'interno della cassetta è composta da: 1) un pad colorato contenente antigeni di *M.tuberculosis* coniugati con oro colloidale (coniugato M.TB) e IgG di topo coniugate con oro colloidale, 2) una membrana di nitrocellulosa contenente due bande test (M e G) e una banda di controllo (C). La banda M è adsorbita con anticorpo monoclonale anti-IgM umane per la determinazione di IgM anti-*M.TB*, la banda G è adsorbita con reagenti per la determinazione di IgG anti-*M.TB*, e la banda C band è adsorbita con IgG di capra anti-topo.

Quando viene dispensato un volume adeguato di campione nel pozzetto S, il campione migra per capillarità lungo la membrana. Se nel campione sono presenti anticorpi IgM contro *M.TB*, essi si legheranno al coniugato M.TB. L'immunocomplesso formato viene catturato sulla membrana dall'anticorpo IgM precedentemente adsorbito, formando una banda colorata a livello della M, indicando un risultato positivo per le IgM M.TB.

Se sono presenti anticorpi IgG contro *M.TB*, essi si legheranno al coniugato M.TB. L'immunocomplesso viene catturato sulla membrana dai reagenti precedentemente adsorbiti, formando una banda colorata a livello della G, indicando un risultato positivo per le IgG M.TB.

L'assenza delle bande M e G indica un risultato negativo. Il test contiene un controllo interno (banda C) che si colora per formazione dell'immunocomplesso di IgG anti-topo di capra / IgG di topo-oro coniugato indipendentemente dalla presenza delle bande test. Altrimenti il test non è valido e deve essere ripetuto.



IV. REAGENTI E MATERIALI FORNITI

- Il kit da 10 test contiene delle buste sigillate con:
 - una card (cassetta)
 - una bustina di essiccante.
- Diluente del campione (1 flacone da 2.0 mL)
- 10 Pipette di plastica
- Istruzioni per l'uso

V. MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

- Cronometro
- Pungidito.

VI. PRECAUZIONI

1. Per uso diagnostico *in vitro* e solo per uso professionale.
2. Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di effettuare il test. Un uso improprio potrebbe dare luogo a risultati errati.
3. Aprire la busta della card appena prima lo svolgimento del test
4. Non usare oltre la data di scadenza riportata sull'etichetta della confezione.
5. Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (15-30°C) prima dell'uso.
6. Non usare reagenti provenienti da kit diversi.
7. Non usare campioni di sangue emolizzato per il test.
8. Indossare indumenti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso. Lavarsi bene le mani dopo aver effettuato il test.
9. Non mangiare, bere o fumare durante l'analisi.
10. Manipolare tutti i campioni come fossero infettivi. Smaltire i campioni e i componenti del kit seguendo le buone regole del laboratorio.
11. Il risultato del test deve essere letto entro 15 minuti dalla deposizione del campione. Non leggere oltre il 15° minuto.
12. Non effettuare il test in stanze con forti correnti d'aria, per esempio vicino ad un ventilatore o all'aria condizionata.

VII. PREPARAZIONE DEI REAGENTI E ISTRUZIONI DI CONSERVAZIONE

Tutti i reagenti forniti sono pronti all'uso. Conservare i dispositivi test non ancora aperti a 2°C-30°C. Se conservati a 2°C-8°C, assicurarsi che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente prima di essere aperti. Il dispositivo test è stabile fino alla data di scadenza riportata sulla busta. Non congelare o esporre a temperature superiori a 30°C.



VIII. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEL CAMPIONE

Considerare il materiale di origine umana come potenzialmente infettivo e manipolare secondo le procedure standard di biosicurezza.

Plasma

1. Raccogliere i campioni di sangue in provette con tappo viola, blu o verde (contenenti rispettivamente EDTA, citrato o eparina in Vacutainer®) attraverso puntura venosa.
2. Separare il plasma per centrifugazione.
3. Trasferire il plasma in un'altra provetta contrassegnata.

Siero

Raccogliere i campioni di sangue in una provetta con tappo rosso (senza anticoagulanti in Vacutainer®) attraverso puntura venosa.

Attendere che il sangue coaguli.

Separare il siero per centrifugazione.

Trasferire il siero in un'altra provetta contrassegnata.

Testare i campioni il prima possibile. Conservare i campioni a 2°C-8°C se non testati immediatamente per un massimo di 5 giorni. Per un periodo più prolungato conservarli congelati a -20°C. Evitare continui congelamenti e scongelamenti.

Prima di effettuare il test, scongelare e portare a temperatura ambiente lentamente i campioni, agitandoli delicatamente. I campioni che contengono materiale corpuscolare devono essere centrifugati. Non usare campioni torbidi, emolizzati o lipemici; potrebbero dare interferenze sul risultato.

Sangue intero

Le gocce di sangue si possono ottenere sia da puntura venosa che da puntura del dito. Non usare sangue emolizzato. I campioni di sangue intero devono essere conservati a 2-8°C se non testati immediatamente. Tali campioni devono essere testati entro 24 ore dal prelievo.

IX. PROCEDIMENTO

Step 1: Lasciare che i campioni e i reagenti refrigerati raggiungano temperatura ambiente. Miscelare bene i campioni prima di usarli.

Step 2: *Aprire la busta ed estrarre la card. Metterla su una superficie piana e pulita*

Step 3: Identificare la card con il numero del campione.

Step 4: **Per sangue intero**

Mettere una goccia di sangue intero (circa 40-50 µl) nel pozzetto S

Aggiungere immediatamente 1 goccia (circa 35-50 µl) di Diluente del campione



Per siero o plasma

Riempire la pipetta con il campione.

Tenendo la pipetta in posizione verticale, dispensare 1 goccia (circa 30-45 µL) di campione nel pozzetto S evitando la formazione di bolle d'aria.

Aggiungere immediatamente 1 goccia (circa 35-50 µL) di Diluente del campione.



Step 5: Far partire il cronometro.

Step 6: Il risultato è leggibile entro 15 minuti. I risultati positivi potrebbero essere visibili anche entro 1 minuto.

Non leggere oltre i 15 minuti. Per evitare confusione gettare i test subito dopo la loro interpretazione.

X. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

1. **NEGATIVO:** formazione della sola banda di controllo. Nel campione non c'è una quantità sufficiente di anticorpi IgM e IgG anti-*M.Tuberculosis*. Il risultato è negativo.



2. **POSITIVO:** formazione di due bande: C e M. Nel campione è presente una quantità di anticorpi IgM anti-*M.Tuberculosis* rilevabile. Il risultato è positivo.



formazione di due bande: C e G. Nel campione è presente una quantità di anticorpi IgG anti-*M.Tuberculosis* rilevabile. Il risultato è positivo



formazione di tre bande: C, M e G. Nel campione ci sono quantità rilevabili di anticorpi IgM e IgG anti-*M.Tuberculosis*. Il risultato è positivo.



I campioni che risultano positivi dovrebbero essere confermati da metodi alternativi e da dati clinici prima della diagnosi definitiva.

3. **NON VALIDO:** se non compare la banda di controllo (C) il test non è valido, indipendentemente dalla presenza delle bande test (M o G), come illustrato di seguito. Ripetere il test con una nuova card



XI. CARATTERISTICHE FUNZIONALI

Dati clinici per il test IgM

Sono stati confrontati 200 campioni di pazienti negativi e 35 campioni di pazienti positivi in terapia, utilizzando il test TUBERCOLOSI e un test ELISA-IgM in commercio. I risultati sono raccolti nella seguente tabella:

IgM ELISA Test	TUBERCOLOSI kit		Totale
	Positivo	Negativo	
Positivo	30	5	35
Negativo	7	193	200
Totale	37	198	235

Sensibilità relativa: 85.7% , Specificità relativa: 96.5%, Accuratezza 94.9%

Dati clinici per il test IgG

Sono stati confrontati 200 campioni di pazienti negativi e 35 campioni di pazienti positivi in terapia, utilizzando il test TUBERCOLOSI e un test ELISA-IgG in commercio. I risultati sono raccolti nella seguente tabella:

IgG ELISA Test	TUBERCOLOSI kit		Totale
	Positivo	Negativo	
Positivo	31	4	35
Negativo	7	193	200
Totale	38	197	235

Sensibilità relativa: 88.6% , Specificità relativa: 96.5%, Accuratezza 95.3%

XII. LIMITI

- Devono essere seguite attentamente tutte le istruzioni per il procedimento del test e l'interpretazione dei risultati. In caso contrario si potrebbero generare risultati non accurati.
- Il test TUBERCOLOSI permette la determinazione qualitativa delle IgM e IgG anti-*M. Tuberculosis* in siero umano, in plasma o in sangue intero. L'intensità della banda test non indica una correlazione lineare con la concentrazione degli anticorpi nel campione.
- Il test riconosce anche gli anticorpi di *M. bovis* e *M. africanum*.
- Si potrebbe avere un risultato positivo alle IgG in persone vaccinate BCG (Bacillo Calmette-Guerin).
- Un risultato negativo indica assenza di quantità rilevabili di anticorpi IgM o IgG anti-*M. Tuberculosis* nel campione. Tuttavia, un risultato negativo non preclude la possibilità di esposizione all'infezione con *M. Tuberculosis*.
- Si può avere un risultato negativo se la quantità di IgM o IgG anti-*M. Tuberculosis* presente nel campione è inferiore al limite di rilevabilità del test, o se gli anticorpi che vengono rilevati non sono presenti al momento del prelievo in una determinata fase della malattia.
- Alcuni campioni contenenti alte concentrazioni di anticorpi eterofili e di fattore reumatoide possono influenzare il risultato atteso.
- I risultati ottenuti con questo test dovrebbero essere interpretati solo insieme ad altri test diagnostici e supportati da dati clinici.

XIII. BIBLIOGRAFIA

- Schaaf, H. S., P. Botha, N. Beyers, R. P. Gie, H. A. et, al 1996. The 5-year outcome of multidrug resistant tuberculosis patients in the Cape Province of South Africa. *Trop. Med. Int. Health* 1:718-722
- Havli, D. V., and P. F. Barnes. 1999. Tuberculosis in patients with human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.* 340:367-373
- Dye L., Scheele S., V. Pathania, et al: 1999 Global Burden of Tuberculosis Estimated Incidence, Prevalence, and Mortality by Country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. *JAMA.* 282:677-686.
- Kochi, A. 1991 The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. *Tubercle* 72:1-6
- Merlin TL, Gibson DW, and DH Connor 1994. Tuberculosis, p400-404 in Rubein E and Farber JL (ed)-Pathology, 2nd edition. J.B. Lippincott Company
- Daniel, T. M. 1996. Immunodiagnosis of tuberculosis, p. 223-231. In W. N. Rom, and S. Garay (ed.), Tuberculosis. Letter, Brown & Co., Boston, Mass.
- Wilkens, E. G. L. 1994. The serodiagnosis of tuberculosis, p. 367-379. In P. D. O. Davies (ed.), Clinical tuberculosis. Chapman & Hall, Ltd., London, England.
- Chan ED., Heifets L., and MD Iseman. 2000 Immunological Diagnosis of tuberculosis: a review. *Tuber. Lung Dis.* 80: 131-140.
- Foulds, J., and R. O'Brien. 1998. New tools for the diagnosis of tuberculosis: the perspective of developing countries. *Int. J. Tubercle. Lung Dis.* 2: 778-783

IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Limiti di temperatura	LOT	Codice del lotto (EXXX)	Fabbricante	Mantenere asciutto	Non sterile
Consultare le istruzioni per l'uso	Utilizzare entro (anno/mese)	REF	Numero di catalogo	Non riutilizzare	Fragile, maneggiare con cura	Tenere lontano dal calore	

CONTENUTO

- Tubercolosi card
- Diluyente del campione
- Pipette di plastica
- Istruzioni per l'uso

Cod. VQ81800 (10 test)

- 10 pezzi
- 1 x 2,0 mL
- 10 pezzi
- 1 pezzo

Codice Ramo CND W0105090199

