

Před použitím si pozorně přečtěte tuto příbalovou informaci.

Capilia™ TB-Neo

ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Pro detekci *M. tuberculosis* komplexu (na pomoc při diagnostice tuberkulózy).

SHRnutí A VYSVĚTLENÍ ZKOUŠKY

Tuberkulóza (dále jen "TBC" (v originálu TB)) je chronické onemocnění způsobené infekcí *Mycobacterium tuberculosis*. Roční počet nových případů TBC je přibližně 8,8 milionu a počet úmrtí na TBC přibližně 1,5 milionu.

Počet infekcí ne-tuberkulózními mykobakteriemi (dále jen "NTM") v posledních letech roste. Symptomy NTM mohou být podobné symptomům způsobeným TBC. Pro stanovení vhodné léčby je kriticky důležité rozlišovat infekce NMT od TB, protože mnohé NTM jsou odolné vůči běžným proti-tuberkulózním lékům.

Definitivní diagnóza TBC se provádí detekcí *M. tuberculosis* z klinického vzorku.

U konvenční metody detekce *M. tuberculosis* komplexu (včetně Niacinové akumulací zkoušky) získání výsledků zkoušky obvykle trvá 4 až 8 týdnů.

V poslední době byla jako nástroj pro rychlou detekci *M. tuberculosis* komplexu vyvinuta identifikační metoda na základě sondy nukleové kyseliny. To však vyžaduje zdoluhavý postup manipulace, speciální nástroje / zařízení a kvalifikované operátory.

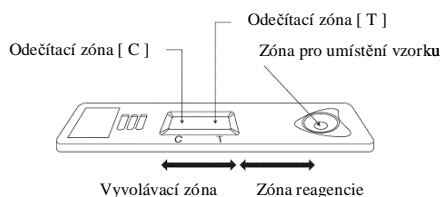
Capilia TB-Neo přebírá imuno-chromatografickou metodu, která dokáže detekovat antigeny MPB64 specificky produkované *M. tuberculosis* komplex.

Capilia TB-Neo je schopen detekovat *M. tuberculosis* v bakteriálních izolátech specificky s vysokým stupněm citlivosti a získat rychlé výsledky zkoušek jednoduchou operací. Nejsou potřeba žádné speciální nástroje ani zařízení.

PRINCIP ZKOUŠKY

Tento produkt sestává z testovací destičky s nosným proužkem složeným ze zóny pro umístění vzorku, zóny reacie obsahující koloidní zlatem označenou monoklonální anti-MPB64 protilátku (myší) (dále jen "koloidní zlatem označenou protilátku anti-MPB64") a vyvolávací zóny, která fixuje monoklonální (myší) protilátku (dále jen "anti-MPB64 protilátku").

Názvy jednotlivých zón testovací destičky



Po umístění vzorku na zónu destičky pro umístění vzorku, se koloidní zlatem označená protilátka anti-MPB64 rozpouští a tvoří imunokomplex s antigeny MPB64 ve vzorku. Tento imunokomplex vztlakovostí migruje přes vyvolávací zónu, zachycuje se protilátkou anti-MPB64 fixovanou ve vyvolávací zóně a tvoří červeno purpurovou čárku koloidního zlata v odečítací zóně [T].

Červeno purpurová čárka vizuálně zobrazuje existenci antigenů MPB64 ve vzorku.

Bez ohledu na existenci antigenů MPB64 ve vzorku nadbytek koloidní zlatem označené protilátky anti-MPB64 dále migruje vyvolávací zónou, přičemž se zachycuje anti-myšními imunoglobulinovými protilátkami fixovanými ve vyvolávací zóně a tvoří červeno purpurovou čárku v odečítací zóně [C]. To znamená, že koloidní zlatem označená protilátka anti-MPB64 migrovala normálně.

POSKYTNUTÉ REAGENCIE A MATERIÁLY

Testovací destičky

- Komponenty
 - Koloidní zlatem označená monoklonální (myší) protilátka anti-MPB64
 - Monoklonální (myší) protilátka anti-MPB64

POTŘEBNÉ, ALE SAMOSTATNĚ PRODÁVANÉ MATERIÁLY

Extrakční pufr

POTŘEBNÉ, ALE NEPOSKYTOVANÉ MATERIÁLY

Časovač, mikropipety, špičky pipet

VÝSTRAHA A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Bezpečnostní opatření při manipulaci se vzorky

- 1) Jako vzorky použijte bakteriální suspenzi nebo tekuté kultivační médium naočkované do média pro acidorezistentní bakterie (AFB). Žádné klinické vzorky, jako jsou lidské tělesné tekutiny, tkáně nebo tekutina bronchiálního výplachu, se nesmí použít jako vzorky ve stavu "jak jsou".
- 2) Kultivované vzorky se musí ihned použít pro testování. ^(Poznámka)
- 3) S bakteriemi naočkovanými do média pro AFB se musí manipulovat velmi opatrně, protože mohou způsobit infekci.
- 4) Některé vzorky včetně podkmenů *Mycobacterium bovis* BCG mezi *M. tuberculosis* komplex (Kodaň, Glaxo, Pasteur a Tice) jsou interpretovány jako negativní, neboť z těchto podkmenů se neprodukuje žádný MPB64.
- 5) Tento produkt není schopen rozlišit každý z (kmenů) *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* a *M. microti* od ostatních, ani v případě, jestliže výsledky zkoušky na *M. tuberculosis* komplex jsou pozitivní.

(Poznámka) Pozitivní kultury v tekutých médiích a kolonie na pevných médiích mohou být testovány až do jednoho roku, pokud se skladují pro testování při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2. Bezpečnostní opatření při používání

- 1) Tento produkt je rychlou zkouškou pro identifikaci *M. tuberculosis* komplex.
Definitivní diagnózu by měl provést ošetřující lékař v kombinaci s klinickými symptomy, výsledkem kultury izolace viru a výsledky jiných zkoušek.
- 2) Tento produkt by se měl používat v souladu s postupem uvedeným v tomto příbalovém letáku.
- 3) Aby se zabránilo poškození, měl by být tento produkt skladován mezi 2 – 30 °C a měl by být chráněn proti vysokým teplotám, vysoké vlhkosti a přímému slunečnímu záření.
- 4) Pokud byl tento produkt chlazený, musí se vyjmout z chladničky alespoň 30 minut před použitím, a při použití pro testování musí mít pokojovou teplotu.
- 5) **Hliníkové sáčky obsahující zkušební destičky by neměly být otevřeny, dokud nejsou bezprostředně před použitím.**
- 6) Zóny pro umístění vzorku a odečítací zóny zkušební destičky by se nikdo neměl dotknout rukou.

3. Pokyny / bezpečnostní opatření pro likvidaci

- 1) Protože testovací destičky, pipety, zbývající vzorky a další testovací materiály/zařízení používané pro identifikaci *M. tuberculosis* komplex mohou způsobit infekci, měly by být před likvidací sterilizovány v autoklávu (při 121 °C po dobu více než 30 minut).
- 2) Při likvidaci sterilizovaných použitých reagensů nebo jiných zkušebních materiálů je nutné s nimi nakládat v souladu s příslušnými zákony a předpisy a musí být zlikvidovány jako zdravotnické odpady nebo průmyslové odpady.

PODMÍNKY SKLADOVÁNÍ

Skladování: Skladujte při teplotě 2 – 30 °C – **NEZMRAZUJTE**

Chraňte před přímým slunečním zářením

Nepoužívejte testovací destičku po uplynutí doby použitelnosti (po datu expirace).

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

1. Metody odběru vzorků

- 1) Jako vzorky použijte bakteriální suspenzi nebo tekuté kultivační médium naočkované do média pro acidorezistentní bakterie (AFB). Žádné klinické vzorky, jako jsou lidské tělesné tekutiny, tkáně nebo tekutina bronchiálního výplachu, se nesmí použít jako vzorky ve stavu "jak jsou".
- 2) Testovací laboratoř, která zpracovává *M. tuberculosis*, musí být izolována od vnějšího prostoru dvojími dveřmi a mykobakterium se musí zpracovávat v biologicky bezpečnostním boxu.
- 3) S bakteriemi naočkovanými do média pro AFB se musí manipulovat velmi opatrně, protože mohou způsobit infekci.
- 4) Rozdělte vzorky mikro-pipetou a pro dávkování každého vzorku použijte nový hrot s filtrem.

2. Příprava vzorku

Po ukončení příslušné předchozí přípravy ^(Poznámka) klinických vzorků, jako jsou lidské tělní tekutiny, tkáně a tekutina bronchiálního výplachu, naočkejte vzorek do kultivačního média pro AFB.

(Poznámka) Příklad předchozí přípravy – sputum:

- **Metoda N-acetyl-L-cystin – hydroxid sodný (NALC-NaOH):**

Přidejte alespoň 2-násobné množství roztoku NALC-NaOH do nádoby obsahující odebrané sputum, promíchejte nádobu vortexovým mixérem a obraťte nádobu tak, abyste smočili vnitřek šroubovací zátky a vnitřní stěnou zkumavky roztokem NALC-NaOH. Nechte nádobu stát při pokojové teplotě po dobu 15 minut a občas lehce protřepejte rukou. Po přidání studeného sterilizovaného 10-násobného množství roztoku fosfátového pufru (PB) (pH 6,8) do nádoby a promíchání, odstřed'te 3,000 x g po dobu 20 minut. Suspendujte sraženinu v 1 ml roztoku PB. Potom naočkejte 0,1 ml suspenze do 1% média Ogawa nebo naočkejte 0,5 ml téhož do kapalného média.

- **Metoda 4% hydroxidu sodného:**

Přidejte alespoň 2-násobné množství 4% roztoku hydroxidu sodného do nádoby obsahující sebrané sputum, plně homogenizujte směs a okamžitě naočkejte 0,1 ml směsi do 3% média Ogawa.

- 1) V případě použití **kapalného média** pro AFB (Příklad: Middle Brook 7H9 vývar)

Inkubujte při 37 °C po dobu 1 až 3 týdnů, dokud se kapalné médium nezakalí v důsledku růstu bakterií. V případě, že se používá MGIT, inkubujte, dokud nebude možná pozitivní interpretace. V obou případech je nutné, aby se potvrdila přítomnost AFB acidorezistentními skvrnami. Míchejte tekuté médium v kultivační zkumavce a použijte médium jako vzorek.

- 2) V případě použití **pevného média** pro AFB (Příklad: Ogawa medium)

Inkubujte při 37 °C po dobu 2 až 4 týdnů, dokud na pevném médiu nebude potvrzen růst kolonií bakterií, a pak potvrďte přítomnost AFB acidorezistentními skvrnami.

- (1) Do zkumavky nadávkujte 0,2 ml extrakčního pufru (prodává se samostatně).
- (2) Naberte 1 µl bakterií (ekvivalentní objemu platinové mikrosmyčky o průměru 1 mm) z kolonie bakterií, která se rozrostla na pevném médiu
- (3) Vytvořte suspenzi nabraných bakterií v roztoku pufru ve zkumavce.
- (4) Zkumavku uzavřete zátkou a plně suspendujte vortexovým (vírovým) mixérem. Potom použijte suspenzi bakterií na vzorky.

POSTUP ZKOUŠKY

- 1) Nakapejte 80 – 100 µl vzorku do zóny pro vložení vzorku zkušební destičky.
- 2) Sledujte odečítací zónu zkušební destičky po 15 minutách a interpretujte výsledek.

Odečtení výsledku

Nechte vzorky reagovat v souladu s postupem a odečtěte červeno purpurové čárky, které se objevují ve zóně.

Pozitivní



Pokud se červeno purpurové čárky tvoří jak u [T] tak [C] v odečítací zóně (dvě čárky), výsledek se odečítá jako pozitivní. Pokud se v odečítací zóně [T] pozoruje velmi slabá červeno purpurová čárka, výsledek se také interpretuje jako pozitivní.

Negativní



Pokud je červeno purpurová čárka vidět pouze u [C] v odečítací zóně (jedna čárka), je výsledek interpretován jako negativní.

Pokud je červeno purpurová čárka u [C] v odečítací zóně tenká, ale viditelná, chromatografické vyvolání proběhlo normálně.

Opakovaná zkouška



Pokud není u [C] v odečítací zóně vidět žádná červeno purpurová čárka, může být nějaký problém se zkušebním postupem nebo kvalitou reagentie. Zkouška by měla být provedena znovu s jinou testovací destičkou.



Pokud čárka padne do kterékoliv části odečítací zóny, na jakékoli místo, zkouška se považuje za platnou. (Hranice mezi částmi odečítací zóny jsou vyznačeny pomocí zářezů na rámečku odečítacího okénka.)

(Poznámka)

1. Pokud u [C] v odečítací zóně není vidět žádná čárka, je možné, že došlo k chybě postupu nebo zhoršení kvality použitého činidla. Proto bude nutné provést opakovanou zkoušku pomocí jiné testovací destičky.
2. Výsledky zkoušek se mohou měnit u některých destiček v důsledku vysušení atd., ke kterému dochází po určité době. V takovém případě je nutné provést opakovanou zkoušku pomocí jiné zkušební destičky.
3. Pokud je výsledek zkoušky pomocí tohoto produktu interpretován jako pozitivní, silně to napovídá přítomnosti *M. tuberculosis* komplex ve vzorku. Nicméně, existuje možnost kombinované infekce *M. tuberculosis* a ne-tuberkulózními AFB, a infekci ne-tuberkulózními AFB není možné vyloučit.
4. V případě kmenů produkujících bílkoviny A, jako je *Staphylococcus aureus*, může dojít k falešně pozitivním reakcím. Pro takový případ přijměte patřičná opatření.
5. Zóny pro umístění vzorku a odečítací zóny zkušební destičky by se nikdo neměl dotknout rukou.
6. Rozdělte vzorky mikro-pipetou a pro dávkování každého vzorku použijte nový hrot s filtrem.
7. I když je výsledek zkoušky s použitím tohoto produktu interpretován jako negativní, může to být způsobeno tím, že je neschopen detekovat *M. tuberculosis* komplex, když koncentrace MPB64 ve vzorku je nižší než detekční limit nebo v genu MPB64 *M. tuberculosis* komplex dojde k mutaci (22). Proto negativní výsledek nemusí nutně vylučovat možnost infekce *M. tuberculosis*.

Každou klinickou diagnózu musí provést ošetřující lékař s využitím všech klinických informací a výsledků zkoušek získaných s tímto produktem.

OMEZENÍ

- 1) Protože pro zkoušky pomocí tohoto produktu jsou použité kultury obsahující AFB a tak dále, musí se operace popsané v této příbalové informaci provádět v biologickém bezpečnostním boxu, a s použitými zkušební destičkami se musí nakládat s náležitými bezpečnostními opatřeními, protože mohou způsobit infekce.
- 2) Zkušební destička by se měla použít ihned po otevření obalu. Když absorbuje vlhkost, kvalita se zhoršuje a nelze získat přesný výsledek.
- 3) Každou klinickou diagnózu musí provést ošetřující lékař při zohlednění všech klinických informací a výsledků zkoušek získaných s tímto produktem.
- 4) Prosím používejte tento produkt podle provozní metody popsané v tomto příbalovém letáku. Neneseme odpovědnost a nezaručujeme výsledky získané jakoukoliv jinou činností a pro jiné účely, které nejsou popsány v příbalovém letáku.

PROVOZNÍ CHARAKTERISTIKY

1. Korelační data

1) Kmeny *M. tuberculosis* Světové zdravotnické organizace (WHO)

		Kontrolní produkt		
		Pozitivní	Negativní	Celkový
Tento produkt	Pozitivní	70	0	70
	Negativní	0	0	0
	Celkový	70	0	70

Přesnost : 100% (70/70)

Citlivost : 100% (70/70)

Specificita : – (0/0)

Jak vyplývá z výše uvedených dat, byly pozitivní výsledky získány s tímto produktem také pro všech 70 kmenů *M. tuberculosis* WHO, pro které byly pozitivní výsledky získané s kontrolním produktem.

2) Klinický izolát *M. tuberculosis*

		Kontrolní produkt		
		Pozitivní	Negativní	Celkový
Tento produkt	Pozitivní	46	0	46
	Negativní	0	5 (Poznámka)	5
	Celkový	46	5	51

Přesnost : 100% (51/51)

Citlivost : 100% (46/46)

Specificita : 100% (5/5)

Jak vyplývá z výše uvedených dat, byly s tímto produktem získány pozitivní výsledky také pro všech 46 klinických izolátů *M. tuberculosis*, pro které bylo dosaženo pozitivních výsledků s kontrolním produktem.

(Poznámka) Genová analýza pěti klinických izolátů *M. tuberculosis*, pro které bylo dosaženo negativních výsledků kontrolním produktem, jakož i tímto produktem, odhalila, že existovala mutace v základní sekvenci genu MPB64 tak, že tyto izoláty byly mutanty, ve kterých exprese proteinu MPB64 byla neúplná.

2. Citlivost (detekční limit)

Minimální detekční limit je $1,2 \times 10^6$ CFU / ml.

3. Reaktivita

1) Kmeny vykazující produkci MPB64

Reakce byla pozorována u následujících 8 kmenů.

M. tuberculosis H37Rv, *M. tuberculosis* H37Ra, *M. africanum*, *M. bovis* deer, *M. microti*, *M. bovis* BCG-Tokyo, *M. bovis* BCG-Rusko, *M. bovis* BCG-Moreau

2) Kmeny nevykazující žádnou produkci MPB64

Žádná reakce nebyla pozorována u 2 následujících kmenů.

M. bovis BCG-Pasteur, *M. bovis* BCG-Tice

4. Zkřížená reaktivita

Reaktivita s následujícími netuberkulózními mykobakteriemi byla zkontrolována a u všech z nich byla potvrzena absence křížení.

M. kansasii, *M. simiae*, *M. asiaticum*, *M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. nonchromogenicum*, *M. szulgai*, *M. terrae*, *M. xenopi*, *M. ulcerans*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. smegmatis*, *M. vaccae*, *M. flavescens*, *M. marinum* JATA22-01, *M. marinum*351-2, *M. marinum*329, *M. marinum*60

INTERFERUJÍCÍ LÁTKY

Pro tento produkt byly provedeny klinické zkoušky pomocí kultur ze sputa, bronchiální výplachové tekutiny, hydrothoraxu, žaludečních šťáv a hnisavé tekutiny jako vzorků a ve výsledcích zkoušek doposud nebyla pozorována jakákoliv interference klinických vzorků. Dále jsme použili následující média pro AFB a ve výsledcích zkoušek nebyla pozorována jakákoliv interference médií:

- Média na vaječné bázi: 3% Ogawa médium, 2% Ogawa médium, 1% Ogawa médium, Loewenstein-Jensen (LJ) médium
- Agarová média: Agarové médium Middle Brook 7H10, agarové médium Middle Brook 7H11
- Kapalná média: Kapalné médium Middle Brook 7H9, kapalné médium Dubo, médium Kirchner, médium Sauton

Jak bylo vysvětleno výše, dosud nebyl ve studii zjištěn žádný dopad různých druhů klinických vzorků nebo kultivačních médií. Nicméně není známo, zda jakékoliv jiné látky přítomné ve vzorcích mohou nebo nemohou ovlivnit výsledky.

REFERENCE

- 1) Toru Mori: Aktuální stav tuberkulózy. Časopis Japonské společnosti laboratorní medicíny 1999 (v japonštině); 43: 491-498.
- 2) Tori Shimouchi: Tuberkulóza v zámoří. Klinická mikrobiologie 1997 (v japonštině); 24: 9-14.
- 3) Kontrolní divize tuberkulózy a infekčních chorob, Úřad zdravotnických služeb, Ministerstvo zdraví, práce a sociální péče: Statistika tuberkulózy 2004 (v japonštině); Výzkumný ústav tuberkulózy Japonského sdružení proti tuberkulóze.
- 4) Akira Oyama: Infekce jinými než tuberkulózními mykobakteriemi 1998. JATA Books č. 11 (v japonštině); Výzkumný ústav tuberkulózy Japonského sdružení proti tuberkulóze.
- 5) Jun Okada: Acidorezistentní bacily. Časopis Japonské společnosti laboratorní medicíny 1996 (v japonštině); 40: 589-594.
- 6) Masamistu Kanai, et al.: Klinická bakteriální zkouška. Příručka klinické laboratorní medicíny 30 vydání 1993 (v japonštině), Kanehara Publishers.
- 7) Hajime Saito, Chiyoji Abe, et al.: Zkoušky acidorezistentních bacilů. (v japonštině) Ishiyaku Publishers 1997.
- 8) Mitsuki Nagasawa, et al.: Identifikace *M. tuberculosis* complex a *M. avium* complex chemi-luminescenčně označenou DNA sondou. Časopis Japonské společnosti laboratorní medicíny 1992 (v japonštině); 36: 197-200.
- 9) Koji Kusaba, et al.: Identifikace nukleové kyseliny z izolace kultury. Časopis Japonské společnosti laboratorní medicíny 1999 (v japonštině); 43: 527-531.
- 10) Mieko Goto: Identifikace nukleové kyseliny z přímého klinického vzorku. Časopis Japonské společnosti laboratorní medicíny 1999 (v japonštině); 43: 533-539.
- 11) Chiyoji Abe: Detekce tuberkulózy, použití amplifikace nukleové kyseliny v diagnostice. Experimentální medicína 1887 (v japonštině); 15: 805-807.
- 12) Harboe M, et al.: Vlastnosti proteinů MPB64, MPB70 a MPB80 *Mycobacterium bovis* BCG. Infect Immun 1986 ; 52: 293-302.
- 13) Oettinger T, et al.: Klonování a B-cell-epitopní mapování MTB64 z *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Infect Immun 1994; 62: 2058-2064.
- 14) Yamaguchi R, et al.: Klonování a charakterizace genu pro imunogenický protein MPB64 *Mycobacteria bovis* BCG. Infect Immun 1986 ; 57: 283-288.
- 15) Andersen AB, et al.: MPB64 má B- and T-buněčné epitopy specifické pro "tuberculosis-complex". Scand J Immunol 1991 ; 34: 365-372.
- 16) Li H, et al.: Důkaz absence genu MPB64 gene v některých pod-kmenech *Mycobacterium bovis* BCG. Infect Immun 1993 ; 61: 1730-1734.
- 17) Abe C, et al.: Jednoduchá a rychlá identifikace *Mycobacterium tuberculosis* komplex imuno-chromatografickou zkouškou pomocí monoklonálních protilátek anti-MPB64. J Clin Microbiol 1999 ; 37: 3693- 3697.
- 18) Hiromi Onishi, et al.: Rychlá identifikace tuberkulózy imuno-chromatografií na bázi protilátky anti-MPB64. Časopis Japonské společnosti pro klinickou mikrobiologii 1999 (v japonštině); 9: 228-233.
- 19) Yukie Furuhashi, et al.: Rychlá identifikace tuberkulózy imuno-chromatografií BACTEC MGIT960 a MPB64. Abstract z 12. Valného shromáždění Asociace pro rychlé metody a automatizaci v mikrobiologii 1999 (v japonštině); 53.

- 20) Hasegawa N, et al.: Nový jednoduchá a rychlá zkouška pro potvrzování kultury Mycobacterium tuberculosis komplex: více-středisková studie, J Clin Microbiol 2002 (Jap) ; 40: 908-912.
- 21) Miyuki Hasegawa, et al.: Rychlá identifikace tuberkulózy imuno-chromatografií. Časopis Japonské asociace pro infekční choroby 2003 (Jap) ; 77: 110-115.
- 22) Hirano K. , et al.: Mutace včetně vložení IS6110 do genu kódujícího protein MPB64 Capilia TB negativních izolátů Mycobacterium tuberculosis. J Clin Microbiol 2004 ; 42: 390-392.

Výrobce



FAX: +81-558-76-0022

Dodavatel pro ČR:

Schubert CZ s.r.o.

Na Bělidle 8

150 00 Praha 5

Tel : 251001191

Mail: objednavky@schubert24.cz

GLOSÁŘ ZNAČEK



Označení CE (Evropská směrnice 98/79/ES o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro)



Autorizovaný zástupce v Evropském společenství



In vitro diagnostické zdravotnické zařízení



Nepoužívejte opakovaně



Teplotní omezení



Výrobce / Vyrobeno kým



Použijte do RRRR-MM



Viz návod k použití



Číslo šarže



Pozor, prostudujte přiloženou dokumentaci.



Katalogové číslo



Chraňte před slunečním zářením



Obsah stačí pro <n> zkoušek



Křehké, manipulujte opatrně



Otevřete zde