

Casete de prueba rápida de tuberculosis (Sangre completa / suero / plasma) FICHA TÉCNICA

REF: ITB-C41 Español

Una prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos anti-TB (Isotipos IgG, IgM e IgA) en muestras de sangre total, suero o plasma.

Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro.

USO PREVISTO

El casete de prueba rápida de tuberculosis (sangre total / suero / plasma) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de anticuerpos anti-TB (isotipos IgG, IgM e IgA) en muestras de sangre total, suero o plasma.

RESUMEN

La tuberculosis (TB) se transmite principalmente a través de la transmisión aérea de gotitas en aerosol que se desarrollan al toser, estornudar y hablar. Las áreas con mala ventilación presentan el mayor riesgo de exposición a infecciones. La tuberculosis es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, lo que resulta en el mayor número de muertes debidas a un solo agente infeccioso. La Organización Mundial de la Salud informa que anualmente se diagnostican más de 8 millones de nuevos casos de tuberculosis activa. Casi 3 millones de muertes también se atribuyen a la tuberculosis^{1,2}. El diagnóstico oportuno es fundamental para el control de la tuberculosis, ya que permite el inicio temprano de la terapia y limita la propagación de la infección. A lo largo de los años, se han utilizado varios métodos de diagnóstico para detectar la tuberculosis, como la prueba cutánea, el frotis de esputo y el cultivo de esputo y la radiografía de tórax. Pero todos estos métodos tienen algunas limitaciones. Recientemente se han introducido pruebas más nuevas, como la amplificación de ADN-PCR o el ensayo de interferón-gamma. Sin embargo, el tiempo de respuesta para estas pruebas es largo, requieren equipo de laboratorio y personal calificado, y algunas no son rentables ni fáciles de usar³. Estas pruebas también son costosas y no prácticas para los países en desarrollo. Los métodos serológicos constituyen una alternativa atractiva, ya que el serodiagnóstico de la tuberculosis es sencillo, económico, relativamente no invasivo y no depende de la detección de micobacterias^{4,5,6}.

El casete de prueba rápida de tuberculosis (sangre total / suero / plasma) es una prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos anti-TB (isotipos IgG, IgM e IgA) en muestras de sangre total, suero o plasma. La prueba utiliza una combinación de antígenos recombinantes para detectar niveles elevados de anticuerpos anti-TB en muestras de sangre total, suero o plasma.

PRINCIPIO

El casete de prueba rápida de tuberculosis (sangre total / suero / plasma) es un inmunoensayo tipo sándwich de dos sitios, de fase sólida y cualitativo para la detección de anticuerpos anti-TB en muestras de sangre total, suero o plasma. La membrana está prerrevestida con antígeno recombinante de TB en la región de la línea de prueba del casete. Durante la prueba, los anticuerpos anti-TB, si están presentes en muestras de sangre total, suero o plasma, reaccionan con las partículas recubiertas con el antígeno recombinante de TB. La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el antígeno recombinante de TB en la membrana y generar una línea de color. La presencia de esta línea de color en la región de la prueba indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Para que sirva como control de procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control que indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y se ha producido la absorción de la membrana.

REACTIVOS

El casete de prueba contiene partículas recubiertas de antígeno recombinante de TB y antígeno recombinante de TB recubierto en la membrana.

PRECAUCIONES

- Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras o kits.
- No utilice la prueba si el paquete está dañado.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos durante la prueba y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analicen las muestras.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.
- La prueba usada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- No use oxalato de potasio como anticoagulante para recolectar muestras de plasma o sangre venosa.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El kit puede almacenarse a temperatura ambiente o refrigerarse (2-30 ° C). El casete de prueba es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la bolsa sellada. El casete de prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. NO CONGELAR. No lo use después de la fecha de vencimiento.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

- El casete de prueba rápida de tuberculosis (sangre total / suero / plasma) se puede realizar utilizando muestras de suero o plasma de sangre completa (de venopunción o punción digital).
- Para recolectar muestras de sangre completa por punción venosa: recolecte una muestra de sangre anticoagulada (EDTA, heparina y citrato de sodio) siguiendo los procedimientos estándar de laboratorio.
- Para recolectar muestras de sangre entera por punción digital:
- Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón o límpiela con un hisopo con alcohol. Deje secar.
- Masajea la mano sin tocar el sitio de la punción frotando la mano hacia la punta del dedo medio o anular.
- Perfore la piel con una lanceta esterilizada. Limpia el primer signo de sangre.
- Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma y el dedo para formar una gota de sangre redondeada sobre el lugar de la punción.
- Agregue la muestra de sangre total por punción digital al casete de prueba utilizando una gota para colgar.
- Coloque el dedo del paciente de modo que la gota de sangre quede justo encima del

pozo de la muestra (S) del casete de prueba.

- Deje que 3 gotas colgantes de sangre entera por punción digital caigan en el centro del pocillo de la muestra (S) en el casete de prueba, o mueva el dedo del paciente de modo que el dedo colgante toque el centro del pocillo de la muestra (S). Evite tocar con el dedo directamente el pocillo de la muestra (S).
- Separe el suero o el plasma de la sangre lo antes posible para evitar la hemólisis. Utilice únicamente muestras transparentes no hemolizadas.
- La prueba debe realizarse inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Las muestras de suero y plasma se pueden almacenar a 2-8 ° C hasta por 3 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 ° C. La sangre entera recolectada por venopunción debe almacenarse a 2-8 ° C si la prueba debe realizarse dentro de los 2 días posteriores a la recolección. No congele muestras de sangre entera. La sangre entera recolectada por punción digital debe analizarse inmediatamente.
- Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente. Si las muestras deben enviarse, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones federales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

MATERIALES

Materiales Proporcionados

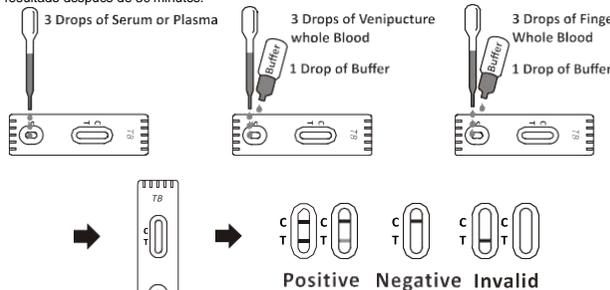
- Cassettes de prueba
- Ficha técnica
- Goteros de muestras desechables
- Buffer (para sangre completa solamente)
- Recipientes de recogida de muestras
- Centrífuga
- Lancetas (solo para sangre total por punción)
- Temporizador

Materiales Requeridos pero no proporcionados

DIRECCIONES PARA SU USO

Deje que el casete de prueba, la muestra, el tampón y/o los controles se equilibren a temperatura ambiente (15-30 ° C) antes de realizar la prueba.

1. Retire el casete de prueba de la bolsa de aluminio sellada y utilícelo lo antes posible. Se obtendrán mejores resultados si el ensayo se realiza inmediatamente después de abrir la bolsa de aluminio.
2. Coloque el casete sobre una superficie limpia y nivelada. Para muestras de suero o plasma: Sostenga el gotero en posición vertical, transfiera 3 gotas de suero o plasma (aproximadamente 75 µL) al pocillo de la muestra (S) del casete de prueba y luego inicie el temporizador. Vea la ilustración a continuación. Para muestras de sangre completa por punción venosa: Sostenga el gotero en posición vertical y transfiera 3 gotas de sangre completa de venopunción (aproximadamente 75 µL) al pocillo de la muestra (S) del casete de prueba, luego agregue 1 gota de tampón (aproximadamente 40 µL) e inicie el temporizador. Vea la ilustración a continuación. Para muestras de sangre total por punción digital: Deje que 3 gotas colgantes de sangre entera por punción digital (aproximadamente 75 µL) caigan en el centro del pocillo de la muestra (S) del casete de prueba, luego agregue 1 gota de tampón (aproximadamente 40 µL) y encienda el temporizador. Vea la ilustración a continuación.
3. Espere a que aparezcan las líneas de color. El resultado debe leerse a los 10 minutos. No interprete el resultado después de 30 minutos.



INTERPRETACION DE RESULTADOS

(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO: * Aparecen dos líneas de colores distintos. Una línea debe estar en la región de control

(C) y otra línea debe estar en la región de prueba (T).

* **NOTA:** La intensidad del color en la región de la línea de prueba (T) variará dependiendo de la concentración de anticuerpos anti-TB presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de prueba (T) debe considerarse **positivo**. **NEGATIVO:** Aparece una línea de color en la región de control (C). No aparece ninguna línea de color aparente en la región de prueba (T).

NO VÁLIDO: La línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables de la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

CONTROL DE CALIDAD

Se incluye un control de procedimiento en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es el control de procedimiento interno. Confirma un volumen de muestra suficiente y una técnica de procedimiento correcta. Los estándares de control no se suministran con este kit; Sin embargo, se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para

confirmar el procedimiento de prueba y verificar el desempeño adecuado de la prueba. Algunos conservantes pueden interferir con el funcionamiento de la prueba. Los controles externos deben validarse antes de su uso para garantizar resultados válidos.

LIMITACIONES

El casete de prueba rápida de tuberculosis (sangre total / suero / plasma) es solo para uso diagnóstico in vitro. La prueba debe usarse para la detección de anticuerpos anti-TB en muestras de sangre total, suero o plasma. Esta prueba cualitativa no puede determinar ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento de la concentración de anticuerpos anti-TB.

1. El casete de prueba rápida de tuberculosis (sangre total / suero / plasma) solo indicará la presencia de anticuerpos anti-TB en la muestra y no debe usarse como el único criterio para el diagnóstico de tuberculosis activa.
2. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben considerarse con otra información clínica disponible para el médico.

CARACTERÍSTICAS DE PRECISIÓN

Sensibilidad, especificidad y precisión clínicas

El casete de prueba rápida de tuberculosis (sangre total / suero / plasma) se ha calibrado frente a muestras que se han recogido de individuos con frotis positivo / negativo o cultivo positivo / negativo. Los resultados muestran que la sensibilidad relativa del casete de prueba rápida de tuberculosis (sangre total / suero / plasma) es del 83,8%, la especificidad relativa es del 98,8% y la precisión relativa es del 95,7%.

Casete de prueba rápida de tuberculosis frente a frotis / cultivo

Metodo	Smear/Culture		resultados	
	Resultados	Positivo		Negativo
Casete de prueba rápida de tuberculosis	Positivo	88	5	93
	Negativo	17	405	422
Resultados totales		105	410	515

Sensibilidad relativa: 88/105 = 83,8% (95% CI *: 75,3% ~ 90,3%); Especificidad relativa: 405/410 = 98,8% (95% CI *: 97,2% ~ 99,6%);

Precisión relativa: (88 + 405) / (88 + 17 + 5 + 405) = 493/515 = 95,7% (95% CI *: 93,6% ~ 97,3%).

*Intervalos de confianza

Precisión Intra-ensayo

La precisión intra-análisis se ha determinado utilizando 20 réplicas de cuatro muestras: una negativa, una positiva baja, una positiva media y una positiva alta. Los valores negativos, positivos bajos, positivos medios y positivos altos se identificaron correctamente > 99% de las veces.

Inter-ensayo

La precisión entre análisis se ha determinado mediante 5 ensayos independientes en las mismas cuatro muestras: los valores negativo, positivo bajo, positivo medio y positivo alto. Se han probado tres lotes diferentes del casete de prueba rápida de tuberculosis (sangre total / suero / plasma) utilizando muestras negativas, positivas bajas, positivas medias y positivas altas. Las muestras se identificaron correctamente > 99% de las veces.

Reactividad cruzada

El casete de prueba rápida de tuberculosis (sangre total / suero / plasma) se ha probado con muestras positivas para: anti-VIH, enfermedades pulmonares, anti-CMV, factor reumatoide (RF), anti-VHC y muestras de niños menores de 15 años, que se les ha administrado la vacuna BCG. No se observó reactividad cruzada, lo que indica que el rendimiento del casete de prueba rápida de tuberculosis (sangre total / suero / plasma) es estable en presencia de estos factores.

Substancias que interfieren

El casete de prueba rápida de tuberculosis (sangre completa / suero / plasma) ha sido probado para detectar posibles interferencias de muestras visiblemente hemolizadas y lipémicas, así como muestras de suero que contienen niveles altos de bilirrubina. Los resultados indican que no se observaron interferencias en muestras que contenían hasta 500 mg / dL de hemoglobina; hasta 30 mg / dL de bilirrubina; y hasta 2.000 mg / dL de albúmina de suero humano.

BIBLIOGRAFIA

1. Global tuberculosis control (2003). *WHO Report* 2003: 1-40.
2. Raviglione M.C., Snider, Jr., D.E., and Kochi, A. Global epidemiology of tuberculosis. *JAMA* (1995), 273: 220-225.
3. Laszlo A. Tuberculosis: laboratory aspects of diagnosis. *CMAJ* (1999), 160: 1725-1729.
4. Bothamley G.H. Serological diagnosis of tuberculosis. *Eur. Resp. J.* (1995), 8: 676s-688s.
5. Lyashchenko K., Colangeli R., Houde M., Jahdali H.A., Menzies D., and Gennaro M.L. Heterogenous antibody responses in tuberculosis. *Infect. Immun.* (1998), 66: 3936-3940.
6. Lyashchenko K.P., Singh M., Colangeli R., and Gennaro M.L. A multi-antigen print immunoassay for the serological diagnosis of infectious diseases. *J. Immunol. Methods* (2000), 242: 91-100.