



ichroma™ IGRA-TB 25

USO PRETENDIDO

ichroma™ IGRA-TB 25 é um imunoenensaio fluorescente (FIA) para detecção qualitativa do interferon gama (IFN- γ) liberado em resposta ao estímulo *in vitro* do antígeno específico da *Mycobacterium tuberculosis* em sangue total humano. É útil no auxílio do gerenciamento e monitoramento da tuberculose.

Uso somente em diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença crônica causada pela *Mycobacterium tuberculosis* e é uma das mais sérias epidemias do mundo, junto com o HIV e a Malária. Do ponto de vista clínico, a tuberculose está definida em duas fases, TB ativa e TB latente.

A detecção da tuberculose latente é crucial, pois cerca de 10% dos casos dão origem à doença ativa em pacientes imunocomprometidos. O diagnóstico da TB latente, no entanto, não é simples, visto a necessidade de um teste de cultura de micobactérias e de um exame de raio-X de peito. Para diagnosticar a TB latente, podem também ser realizados ensaios *in vitro* em sangue para a determinação do IFN- γ (IGRAs) liberado na resposta celular imune pelas células T após o estímulo de antígenos específicos da *M. tuberculosis*.

ichroma™ IGRA-TB 25 é o primeiro ensaio IGRA com sistema de fluxo lateral, o qual é mais simples e mais rápido em comparação com o teste rápido. Esse teste é útil no auxílio à eliminação da tuberculose.

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodeteção tipo sanduíche.

Os anticorpos detectores no tampão ligam-se aos antígenos presentes na amostra, formando complexos antígeno-anticorpo e migram para a matriz de nitrocelulose para serem capturados pelos anticorpos imobilizados na tira de teste.

Quanto mais antígenos na amostra, mais complexos antígeno-anticorpo são formados, gerando uma intensidade mais forte do sinal de fluorescência no anticorpo detector, que é processado pelo instrumento para testes ichroma™ para apresentar o resultado positivo para TB latente na amostra.

COMPONENTES

O kit **ichroma™ IGRA-TB 25** consiste em 'cassetes', 'tubos detectores' e 'diluyente do detector'.

- O cassete contém uma membrana chamada de tira de teste que possui estreptavidina na linha teste e anticorpos IgY de galinha na linha controle. Cada cassete é individualmente selado em um invólucro de folha de alumínio contendo um dessecante. Os invólucros de alumínio estão embalados em uma caixa.
- O tubo detector possui 2 grânulos contendo conjugado fluorescente anti-IFN- γ humano e biotina, conjugado fluorescente anti-IgY de galinha, albumina de soro bovino (BSA), sacarose e IgG de camundongo como estabilizante. Todos os tubos detectores estão embalados em uma caixa.
- O diluyente do detector contém tween-20 como detergente e cloreto de sódio como estabilizante em Tris-HCl. O diluyente é dispensado em um frasco. O diluyente do detector é embalado em uma caixa.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Uso somente para diagnóstico *in vitro*.
- Siga cuidadosamente as instruções e procedimentos descritos nesta Instrução de Uso.
- Use somente amostras frescas e evite exposição direta à luz do sol.
- Os números de lote de todos os componentes de teste (cassete,

tubo detector, diluyente do detector e ID chip), com exceção do número de lote do tubo de coleta IGRA-TB Tube, que devem coincidir somente entre si.

- O número de lote do tubo de coleta IGRA-TB Tube é gerenciado separadamente.
- Não misture materiais de diferentes lotes do produto ou use o produto após a data de validade, em qualquer um dos casos, resultados incorretos poderão ocorrer.
- Não reutilize cassetes, tubos detectores e diluyente do detector. O cassete deve ser utilizado para testar apenas uma amostra. Um tubo detector deve ser utilizado para o processamento de apenas uma amostra.
- Não utilize o tubo caso algum tubo apresente sinais de dano antes de ser utilizado.
- O cassete deve permanecer selado em seu invólucro original até imediatamente antes do uso. Não use o cassete caso o invólucro esteja danificado ou aberto.
- Amostras congeladas devem ser descongeladas somente uma vez. Para transportá-las, as amostras devem ser embaladas de acordo com as normas locais. Amostras com hemólise severa e/ou hiperlipidemia não devem ser utilizadas.
- Caso os componentes e/ou a amostra estejam armazenados em refrigeração, deixe o cassete, tubo detector, diluyente do detector e a amostra atingirem a temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes de sua utilização.
- O instrumento para testes ichroma™ poderá emitir pequenas vibrações durante o uso.
- Os cassetes, tubos detectores, diluyente do detector e ponteiros usados devem ser manuseados cuidadosamente e descartados da forma apropriada conforme as normas locais.
- **ichroma™ IGRA-TB 25** fornecerá resultados precisos e confiáveis quando sujeito às seguintes condições:
 - O kit **ichroma™ IGRA-TB 25** deve ser usado apenas em conjunto com instrumento para testes ichroma™.
 - Os seguintes anticoagulantes recomendados devem ser utilizados:

Anticoagulante recomendado

Heparina lítica

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

| Componente | Condição de armazenamento | | |
|-----------------------|------------------------------|----------|-------------|
| | Temperatura de armazenamento | Validade | Nota |
| Cassete | 2 - 30 °C | 20 meses | Uso único |
| Tubo detector | 2 - 30 °C | 20 meses | Uso único |
| Diluyente do detector | 2 - 30 °C | 20 meses | Fechado |
| | | 20 meses | Após aberto |

- Após a abertura do invólucro do cassete, o teste deve ser realizado imediatamente.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode apresentar resultado falso-positivo devido à reação cruzada e/ou adesão não-específica de certos componentes da amostra aos anticorpos detectores/captura.
- O teste pode apresentar resultado falso-negativo. A não responsividade dos antígenos aos anticorpos é mais comum onde o epítipo é mascarado por algum componente desconhecido, de modo a não ser detectado ou capturado pelos anticorpos. A instabilidade ou degradação do antígeno com o tempo e/ou temperatura pode levar ao resultado falso-negativo, uma vez que se torna irreconhecível pelos anticorpos.
- Outros fatores podem interferir no teste e levar a resultados errôneos, tais como erros de procedimento/técnico, degradação dos componentes do teste/reagentes ou presença de substâncias interferentes nas amostras-teste.
- Qualquer diagnóstico clínico baseado no resultado do teste deve ser confirmado pela avaliação de um médico, incluindo sintomas clínicos e outros resultados relevantes.

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **ichroma™ IGRA-TB 25**

- Caixa dos Cassetes:
 - Cassetes 150 unidades
 - ID chip 1 unidade
 - Instrução de Uso 1 unidade
 - Tubo detector 150 unidades
 - Diluyente do detector 6 unidades

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens seguintes podem ser adquiridos separadamente do kit **ichroma™ IGRA-TB 25**:

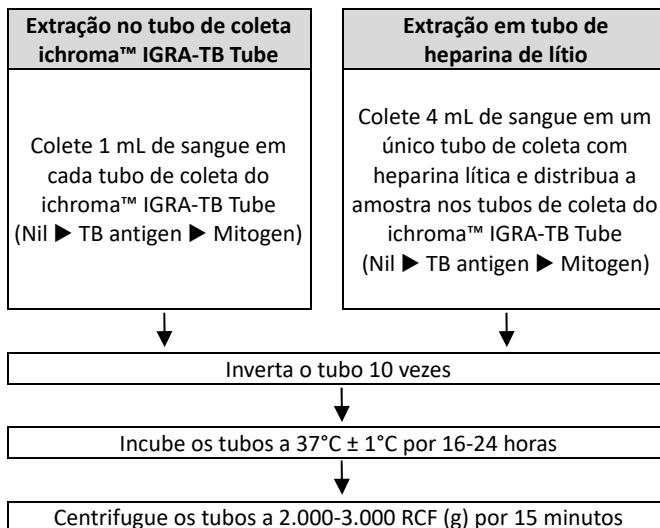
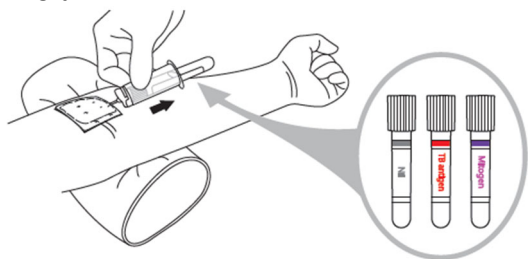
Por favor, contate a **BIOSYS LTDA.** para maiores informações.

- Instrumento para testes **ichroma™**
 - ichroma™ II**
 - ichroma™ III**
 - ichroma™ M2**
- Boditech IGRA-TB Control**
- ichroma™ IGRA-TB Tube**

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

O tipo de amostra a ser utilizado com **ichroma™ IGRA-TB 25** é plasma em heparina lítica

- Para cada paciente, colete 1 mL de sangue por venopunção diretamente em cada tubo de coleta **ichroma™ IGRA-TB Tube**.
 - A linha preta na lateral do tubo indica a faixa entre 0,8 e 1,2 mL. Se o nível de sangue no tubo desviar dessa faixa indicativa, uma nova amostra de sangue deve ser colhida.
 - Colete 1 mL de sangue em cada um dos tubos: **ichroma™ IGRA-TB Nil** (cinza), **TB antigen** (vermelho) e **Mitogen** (roxo), e inverta cada tubo gentilmente 10 vezes, para que o aditivo e a amostra de sangue se misturem.
 - Inverta bem para certificar que todo o conteúdo do tubo foi coberto com a amostra de sangue.
 - Caso a amostra seja misturada vigorosamente, pode ocorrer hemólise e divisão do gel, o que pode levar à resultados incorretos.
 - Preencha as informações do paciente na etiqueta do tubo.
 - Após a coleta, o sangue deve ser armazenado em uma incubadora ($37 \pm 1^\circ\text{C}$) imediatamente ou dentro de 16 horas.
 - Antes da incubação, mantenha e transporte os tubos à temperatura ambiente ($22 \pm 5^\circ\text{C}$).
 - Caso a amostra não seja incubada imediatamente, mas em até 16 horas após a coleta, inverta o tubo gentilmente 10 vezes, novamente, antes de incubá-lo.
 - A incubação deve ser realizada com o tubo na vertical, dentro de 16 horas após a coleta, à $37 \pm 1^\circ\text{C}$, durante 16-24 horas.
- ❖ **Se o método descrito acima não for seguido, poderão ocorrer erros nos resultados.**
- Após a incubação, centrifugue o tubo com o sangue coletado a 2.000~3.000 RCF (g) durante 15 minutos.
 - Após a incubação, a centrifugação deverá ser realizada imediatamente para a obtenção do plasma.
 - Armazenamento da amostra:**
 - O tubo centrifugado pode ser armazenado por até 1 semana entre 2°C e 8°C antes da extração do plasma, e se extraído, deve ser armazenado por até 1 mês abaixo de -20°C .
 - Ciclos repetidos de congelamento e descongelamento podem afetar o resultado do teste, não congele novamente amostras previamente congeladas.
 - Amostras contendo precipitados devem ser clarificadas por centrifugação antes da análise.

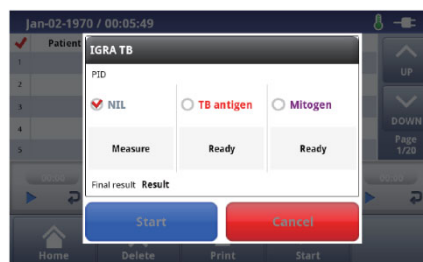


CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **ichroma™ IGRA-TB 25**: cassetes selados, tubos detectores, diluyente do detector, ID Chip e instruções de uso.
- Assegure que o número do lote dos cassetes equivale ao do ID Chip, assim como o do tubo detector e o do diluyente do detector.
- Mantenha o cassete, o tubo detector e o diluyente do detector, se armazenados na geladeira, à temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da realização do teste. Coloque o cassete sobre uma superfície limpa, isenta de poeira e plana.
- Ligue o instrumento para testes **ichroma™**.
- Insira o ID chip na porta do ID Chip no leitor.
(Favor consultar o Manual de Operações do instrumento para testes **ichroma™** para obter informação completa e instruções de operação.)

PROCEDIMENTO DO TESTE

- ichroma™ II**
 - Rotule 3 cassetes com a sequência do teste, Nil, TB antigen e Mitogen.
Ex.: N para Nil, A para TB antigen, M para Mitogen
 - Pegue 100 μL do diluyente do detector utilizando uma pipeta e dispense-o no tubo detector contendo o grânulo. Quando o grânulo estiver completamente dissolvido no tubo, significa que o tampão de detecção está pronto. (O tampão de detecção deve ser utilizado imediatamente. Não exceder 30 segundos para utilizá-lo).
 - Pegue 50 μL da amostra utilizando uma pipeta e transfira-a para o tubo detector. Misture completamente a amostra invertendo o tubo cerca de 10 vezes. (A mistura da amostra deve ser usada imediatamente. Não exceder 30 segundos para utilizá-la).
 - Pegue 100 μL da mistura da amostra e dispense-a no poço para amostra do cassete.
*As amostras ①Nil, ②TB antigen e ③Mitogen devem ser carregadas sequencialmente.
 - Deixe o cassete a temperatura ambiente por 15 minutos.



- Insira o cassete carregado com amostra do tubo Nil no suporte para cassetes do leitor **ichroma™ II** e clique no botão "Start". Certifique-se de selecionar o modo do teste específico de IGRA-TB na tela suspensa.
- Confirme o valor do teste do tubo Nil (IU/mL) e então insira o cassete carregado com amostra do tubo TB antigen no suporte para cassetes do leitor **ichroma™ II** e clique no botão "Start".



8. Confirme o valor do teste do tubo TB antigen (IU/mL) e então insira o cassete carregado com amostra do tubo Mitogen no suporte para cassetes do leitor ichroma™ II e clique no botão “Start”.

*Certifique-se da orientação e sequência correta dos cassetes antes de inseri-los completamente dentro do suporte para cassetes do instrumento para testes ichroma™.



9. Certifique-se de que o resultado final (Final result) aparece na tela. Se você quiser realizar outros testes IGRA-TB, toque em “Finish” para voltar ao modo Multi.



9.1. Se você quiser testar novamente algum dos 3 tubos, toque no tipo de tubo, insira o cartucho e toque no botão “Start”.



10. Insira o novo cassete carregado com a amostra do tubo Nil no suporte para cassete e toque o botão “Start” para iniciar o novo teste IGRA-TB.



11. Caso queira visualizar os detalhes das informações do teste na tela, dê um duplo toque no resultado e veja os detalhes.

■ ichroma™ III

1. O procedimento do teste é o mesmo do ‘ichroma™ II’.

■ ichroma™ M2

<Modo Read Now (Leitura Imediata)>

1. Verifique a exibição de “Read Now” na tela do ichroma™ M2 e defina o tipo de tubo (Nil, TB antigen, Mitogen).
2. O procedimento do teste é o mesmo do ‘ichroma™ II’ do item 1) ao item 5).
3. Deixe o cassete a temperatura ambiente por 15 minutos.
Escaneie o cassete carregado com a amostra imediatamente após o término do tempo de incubação. Caso não seja feito, poderão ocorrer resultados inexatos.
4. Para realizar a leitura, insira o cassete no suporte do instrumento para testes ichroma™. Verifique a posição adequada do cassete antes de inseri-lo completamente no suporte. Uma seta está marcada no cassete especialmente para este propósito.
5. ichroma™ M2 inicia o teste automaticamente após inserção.
6. O instrumento para testes ichroma™ iniciará a leitura do cassete carregado com a amostra imediatamente.
7. Leia o resultado do teste na tela do instrumento para testes ichroma™.

<Modo Walk Away>

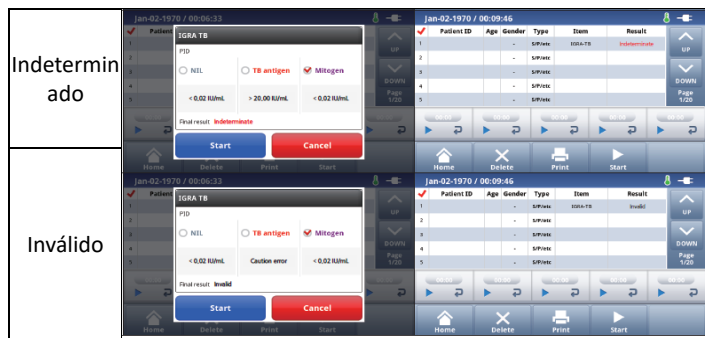
1. Verifique a exibição de “Walk Away” na tela do ichroma™ M2 e defina o tipo de tubo (Nil, TB antigen, Mitogen).
2. O procedimento do teste é o mesmo do ‘ichroma™ II’ do item 1) ao item 5).
3. Insira o cassete carregado com a amostra no suporte do instrumento para testes ichroma™. Verifique a posição adequada do cassete antes de inseri-lo completamente no suporte. Uma seta está marcada no cassete especialmente para este propósito.
4. ichroma™ M2 inicia o teste automaticamente após inserção.
5. O cassete será carregado para o interior do instrumento para testes ichroma™ e será automaticamente escaneado após 15 minutos.
6. Leia o resultado do teste na tela do instrumento para testes ichroma™.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

| Nil (IU/mL) | TB Antigen menos Nil (IU/mL) | Mitogen menos Nil (IU/mL) | ichroma™ IGRA-TB 25 (IU/mL) | Relatório / Interpretação |
|-------------|--------------------------------|---------------------------|-----------------------------|--|
| ≤ 8,0 | < 0,35 | ≥ 0,5 | Negativo | Infecção por <i>M. tuberculosis</i> improvável |
| | ≥ 0,35 e < 25% do valor do Nil | ≥ 0,5 | Positivo | Provável infecção por <i>M. tuberculosis</i> |
| > 8,0 | ≥ 0,35 e ≥ 25% do valor do Nil | Nenhum | Indeterminado | Resultado indeterminado para responsividade ao antígeno TB |
| | < 0,35 | < 0,5 | | |
| > 8,0 | ≥ 0,35 e < 25% do valor do Nil | < 0,5 | | |
| > 8,0 | Nenhum | Nenhum | | |

- O resultado do ichroma™ II aparece, imediatamente, numa tela suspensa para IGRA-TB.
- Os resultados também aparecem na tela no modo Multi, conforme descrito acima.

| Resultado | Exemplo de resultado | |
|-----------|----------------------|------------|
| | Modo IGRA-TB | Modo Multi |
| Negativo | | |
| Positivo | | |



CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade (CQ) são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e validade do ensaio e devem ser realizados em intervalos regulares.
- Os testes de CQ deverão ser realizados imediatamente antes de usar um novo lote do teste para garantir que a performance do teste não seja alterada ou quando houver dúvidas referentes à validade dos resultados dos testes.
- Os controles não são fornecidos com o kit **ichroma™ IGRA-TB 25**. Para mais informações sobre a obtenção dos materiais de controle de qualidade, entre em contato com a BioSys Ltda. (Por favor, consulte as instruções de uso do kit do controle.)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade Analítica

Limite do Branco (LoB): 0,03 IU/mL
 Limite de Detecção (LoD): 0,05 IU/mL

Especificidade Analítica

Reatividade Cruzada

A biomoléculas apresentadas na tabela abaixo foram adicionadas à amostra de teste em concentrações muito superiores aos seus níveis fisiológicos normais no sangue. Os resultados dos testes de **ichroma™ IGRA-TB 25** não mostraram nenhuma reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas.

| Biomolécula | Concentração |
|------------------------------------|--------------|
| Fator de necrose tumoral-α (TNF-α) | 100 ng/mL |
| Fator de necrose tumoral-β (TNF-β) | 100 ng/mL |
| Interleucina-2 (IL-2) | 100 ng/mL |
| Interleucina-4 (IL-4) | 100 ng/mL |
| Interleucina-6 (IL-6) | 100 ng/mL |
| Interleucina-10 (IL-10) | 100 ng/mL |
| Interleucina-17 (IL-17) | 100 ng/mL |
| Interleucina-23 (IL-23) | 100 ng/mL |
| Interleucina-27 (IL-27) | 100 ng/mL |

Interferência

Os materiais de interferência listados na tabela abaixo foram adicionados às amostras em testes conforme as concentrações apresentadas. Os resultados dos testes **ichroma™ IGRA-TB 25** não mostraram qualquer interferência significativa com esses materiais.

| Material de Interferência | Concentração |
|---------------------------|--------------|
| Heparina lítica | 100.000 U/L |
| Bilirrubina | 400 μM |
| Hemoglobina | 2 mg/mL |
| Triglicédeos | 1,5 mg/mL |
| Colesterol | 7,7 mg/mL |
| Albumina de Soro Bovino | 60 mg/mL |

Precisão

Repetibilidade (precisão na corrida)

Precisão total (precisão no laboratório)

Precisão lote a lote

3 lotes do **ichroma™ IGRA-TB 25** foram testados por 21 dias. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Cada teste foi testado em duplicata.

Entre pessoas

3 lotes do **ichroma™ IGRA-TB 25** foi testado por 3 pessoas

diferentes.

Entre locais

1 lote do **ichroma™ IGRA-TB 25** foi testado em 3 locais diferentes.

| Material padrão [IU/mL] | Repetibilidade (na corrida) | | Precisão Total (Precisão no laboratório) | | Precisão lote a lote | |
|-------------------------|-----------------------------|--------|--|--------|----------------------|--------|
| | Média | CV (%) | Média | CV (%) | Média | CV (%) |
| 0 | 0,01 | - | 0,01 | - | 0,02 | - |
| 0,75 | 0,74 | 3,98 | 0,75 | 4,28 | 0,75 | 0,99 |
| 3,0 | 3,02 | 5,37 | 3,01 | 4,98 | 3,01 | 0,26 |
| 12,0 | 12,11 | 4,16 | 12,16 | 4,50 | 12,07 | 0,63 |
| Material padrão [IU/mL] | Entre locais | | Entre pessoas | | | |
| | Média | CV (%) | Média | CV (%) | | |
| 0 | 0,03 | - | 0,02 | - | | |
| 0,75 | 0,76 | 0,00 | 0,76 | 0,66 | | |
| 3,0 | 3,09 | 0,97 | 3,05 | 0,64 | | |
| 12,0 | 11,99 | 0,46 | 12,22 | 1,04 | | |

Desempenho clínico

| ichroma™ IGRA-TB 25 | Comparador A | Comparador A | | Total |
|---------------------|--------------|--------------------------------|----------|--------------------------|
| | | Positivo | Negativo | |
| TB 25 | Positivo | 102 | 6 | 108 |
| | Negativo | 23 | 232 | 255 |
| Total | | 125 | 238 | 363 |
| PPA (%) | | 81,6% (95% I.C. 73,9% ~ 87,4%) | | |
| NPA (%) | | 97,5% (95% I.C. 94,6% ~ 98,8%) | | |
| OPA (%) | | 92,0% (95% I.C. 88,8% ~ 94,4%) | | |
| Kappa de Cohen (k) | | 0,817 (95% I.C. 0,745 ~ 0,881) | | [concordância muito boa] |

<Análise estatística do kappa>

- 0,000~0,200: concordância ruim
- 0,201~0,400: concordância razoável
- 0,401~0,600: concordância moderada
- 0,601~0,800: concordância boa
- 0,801~1,000: concordância muito boa

GARANTIA

Esta instrução de uso deve ser lida atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do teste não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

DESCARTE

Seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.



REFERÊNCIAS

- Mahomed, H., et al. "Comparison of Mantoux skin test with three generations of a whole blood IFN-γ assay for tuberculosis infection." The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease 10.3 (2006):310-316.
- ECDC. 2011. Use of interferon-gamma release assays in support of TB diagnosis.

Observação: Favor consultar a tabela abaixo para identificar os diversos símbolos:

| | |
|--|---|
| | Quantidade suficiente para <n> testes |
| | Consulte as instruções de uso |
| | Validade |
| | Código do lote |
| | Número de catálogo |
| | Cuidado |
| | Fabricante |
| | Representante autorizado da Comunidade Europeia |
| | Produto para a saúde para diagnóstico in vitro |
| | Limite de temperatura |

Instruções de UsoSomente para uso diagnóstico *in vitro*

| | |
|---|---|
|  | Não reutilizar |
|  | Este produto cumpre as exigências da Diretiva 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i> |

**Boditech Med Incorporated**  

43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon,

Chuncheon-si, Gang-won-do

Republic of Korea

Tel: +(82) -33-243-1400

Fax: +(82) -33-243-9373

www.boditech.co.kr

Fabricante: Boditech Med Incorporated
Regularizado por: BioSys Ltda
Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro,
Niterói, RJ Cep: 24020-112
CNPJ: 02.220.795/0001-79
Anvisa – nº 10350840461
SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414
sac@biosys.com.br www.biosys.com.br