

CAMPIONI:
Colonie di Microbatteri
cresciuti su terreno
agar 7H11 slant,
brodo liquido o
espettorato
decontaminato

STRUMENTAZIONE
NECESSARIA
FORNITA DA LIFELINELAB:

MATERIALI E
STRUMENTAZIONE
NECESSARI DISPONIBILI
A RICHIESTA:

- Microcentrifuga
- Thermocycler
- Micropipette

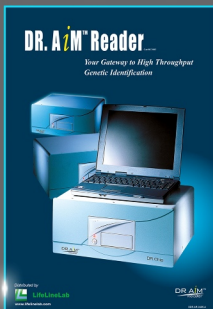
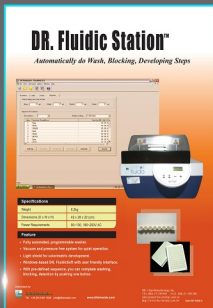
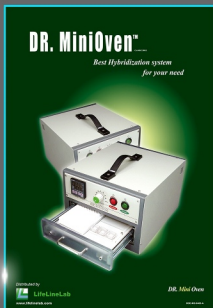
METODOLOGIA:

Estrazione del DNA
dal campione.

Amplificazione di un frammento
di DNA altamente specifico
IS6110 presente solo nei
membri del complesso
dell' MTB

Sistema di rivelazione basato
sul precipitato di un prodotto
insolubile nelle zone del
micro-array ove si produce la
cattura specifica dei prodotti
amplificati.

Letture automatiche
con strumento dedicato.



DR. HPV™ Chip Kit
Codice: 8D1027

19 Genotipi di papilloma virus umano.



DR. HBV™ Chip Kit
Codice: 8D1023

Virus dell'Epatite B genotipi A,B,C,E
e F e 2 mutanti resistenti al trattamento
con lamivudina YDD e YVDD.



DR. EV™ Chip Kit
Codice: 8D1033

Infezioni da enterovirus: genere
Enterovirus, Enterovirus 71,
Coxsackie A16



DR. RV™ Chip Kit
Codice: 8D1040

Infezioni respiratorie: Coronavirus,
Influenza A e B, Parainfluenza 1, 2 e 3,
RSV e Adenovirus.

Infezioni
respiratorie:

Legionella,
Chlamydia,
Mycoplasma.

DR. RB™ Chip Kit
Codice: 8D1042

DR. MTBC™ Chip Kit

SCREENING MICROBATTERIO
DELLA TUBERCOLOSI
DIAGNOSI MOLECOLARE *IN VITRO*



LifeLineLab

The Microarray Company

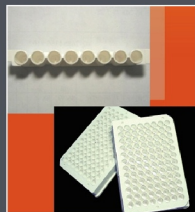
DR. MTBC™ Chip Kit

SCREENING del MICROBATTERIO della TUBERCOLOSI per la DIAGNOSI MOLECOLARE *IN VITRO*

Il complesso del Micobatterio della Tuberculosis (MTB): M. tuberculosis, M. bovis (BCG), M. africanum, M. microti, e M. canettii è il principale patogeno che causa nell'uomo la tubercolosi, malattia che uccide 3 milioni di individui ogni anno.

Il Kit DR.MTBC Screen™ IVD effettua in sole 5 ore, estrazione di DNA inclusa lo screening di tutti i membri del complesso MTB, in presenza, su ciascun campione (pozzetto), di controlli di ibridazione e PCR ottenendo una elevata sensibilità e specificità.

TECNOLOGIA: MICRO-ARRAYS a bassa densità in micropiastria da 96 pozzetti (12 strip da 8 pozzetti).



SENSIBILITÀ: 80 CFU/ml o 5,5 copie di DNA genomico per reazione.

SPECIFICITÀ: il kit utilizza sonde di cattura e primers biotinilati specifici per individuare i ceppi specifici di MTB.

Non sono state riscontrate cross-reazioni con nessuno dei 54 microorganismi analizzati tra cui 14 micobatteri non tubercolari.

RISULTATI: ≤ 5 ore

METODICA: di facile esecuzione da parte di tecnici di laboratorio

CE: provvisto di marcatura CE.

DETERMINAZIONE: di un frammento di DNA altamente specifico IS6110 presente solo nei membri del complesso dell' MTB.

PRINCIPIO: Questo kit per la diagnosi in vitro del complesso MTB si basa sull'amplificazione PCR mediante primers biotinilati di un frammento specifico del suo genoma e successiva ibridazione con una sonda di cattura specifica, rivelazione mediante coniugato streptavidina-fosfatasi alcalina e cromogeno NBT-BCIP, lettura automatica con Dr.AIM Reader.

SINTESI DELLA PROCEDURA :

Estrazione del DNA: Condizionare i batteri di una singola colonia nei tamponi di estrazione e lisi (15min) e sonicare a 50°C per 30 min; quindi bollire per 20 min, raffreddare in ghiaccio per 5 min e centrifugare a 3000 x g per 5 min.

PCR: Preparare la Mix di reazione aggiungendovi la DNA polimerasi e quindi il DNA estratto. Eseguire lo specifico programma di incubazioni nel Thermocycler (70 min).

Diluzione: del prodotto ottenuto dalla PCR nella soluzione di ibridazione.

Denaturazione dei prodotti della PCR in Thermocycler a +95°C (5 min) e successivo raffreddamento a +4°C (5 min).

Ibridazione dei campioni denaturati e trasferiti nei relativi pozzetti della micropiastria in incubatore MiniOven (60 min).

Lavaggio e Sviluppo mediante procedura specifica nella Fluidic Station (50min).

Lettura: Acquisizione immagine (3 min) e analisi dei risultati (10 secondi) mediante Dr. AIM Reader.

I risultati sono visualizzati su monitor e analizzati in modo completamente automatico con possibilità di intervento del Supervisor: Fig. 1

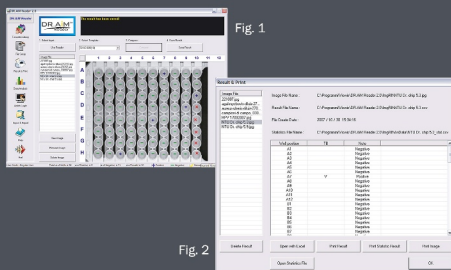


Fig. 2

Sul monitor dello strumento appare la tabella a più colonne contenente tutti i risultati della seduta analitica ed esportabile in Excel. Fig. 2

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI :

I risultati vengono interpretati in base al pattern che si forma sul chip. Le figure che seguono mostrano i pattern del kit DR.MTBC™.

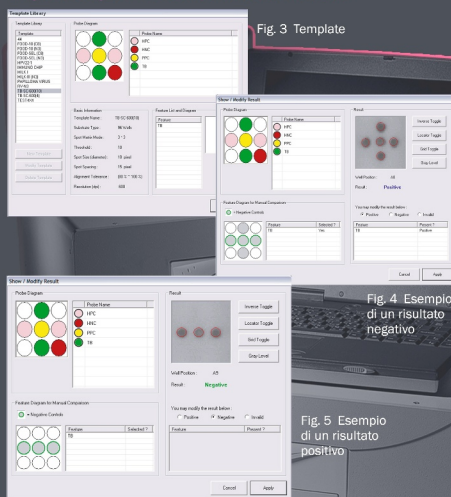


Fig. 3 Template

Fig. 4 Esempio di un risultato negativo

Fig. 5 Esempio di un risultato positivo

PRESTAZIONI DEL METODO :

La Riproducibilità è stata valutata utilizzando 3 campioni di cui un negativo, un basso positivo (160 copie /reazione) e un forte positivo (>10⁷ copie/reazione). Ciascun campione è stato ripetuto per 21 volte.

La seguente tabella mostra i risultati ottenuti:

Livello	Copie/Reazione	N° test	Positivo	Negativo	Accuratezza	Media Standard
Alto positivo	> 10 ⁷	21	21	0	100%	54,6
Basso positivo	160	21	21	0	100%	36,4
Negativo	0	21	0	21	100%	1,21

Tab. 1 Precisione

La Correlazione Clinica è stata valutata su un totale di 193 campioni clinici provenienti dall'ospedale Kao-Hsiung Veterans General Hospital. Tutti i campioni sono stati classificati mediante isolamento in coltura e osservazione diretta, ovvero l'attuale Gold Standard per la diagnosi di Tuberculosis e quindi analizzati con il Kit DR.MTBC™ SCREEN. La sensibilità, specificità e i valori predittivi positivo e negativo sono rispettivamente 84.8%, 95.7%, 95.5% e 85.7%. La seguente tabella mostra i risultati ottenuti:

Risultati acid fast smears (n° campioni)	N° di campioni				Sensibilità (%)	Specificità (%)	Valori Predittivi	
	Pos. Coltura (n=9)	Neg. Coltura (n=84)	PCR (+)	PCR (-)			Pos.	Neg.
Smear-posit. (9)	82	11	0	0	88.2	100	100	***
Smear-neg. (100)	2	4	4	90	33.3	95.7	33.3	95.7
Totale (193)	84	15	4	90	84.8	95.7	95.5	85.7

Tab. 2 Correzione Clinica

Kit su Micropiastria da 96 pozzetti (C8)

PRODOTTO	CODICE
DR MINOVOEN (CE)	8C3006
DR FLUIDIC STATION (CE)	8C3014
DR AIM READER (CE)	8C3003
DR.MTBC™ KIT (CE)	8D1028

COMPOSIZIONE DEL KIT :

Contenuto	96 test/kit
DNA Polimerasi (tappo rosso) 55 µL/Reazione	1 flacone
TSM (tappo arancione) 1,1ml/flacone	2 flaconi
Tampone E1 10X 20 ml	1 flacone
Tampone E2 1.3 ml	8 flaconi
DR. Hyb™ Buffer 15 mL/flacone	1 flacone
Tampone di Blocking 80 µL/flacone	1 flacone
Coniugato Strep-AP 30 µL/flacone	2 flaconi
NBT/BCIP, flacone marrone 0.6ml/flacone	2 flaconi
Cromogeno 120 ml/flacone	1 flacone
Tampone di lavaggio 200 ml/flacone	2 flaconi
DR. MTBC™ Chip 1 strip da 8 / conf	12 conf.
Frame Piastra da 96 pozzetti	1
Foglio di plastica adesivo	1
Istruzioni per l'uso	1