

ASPERGILLUS

CE



ICT IgG-IgM

In vitro диагностичен имуноблот тест
ръчна техника

#ASPG Ab ICT20: 20 tests

#ASPG Ab ICT100: 100 tests

Инструкции за употреба

Намерете повече информация и инструкции за употреба на вашия език на нашия уебсайт
www.ldbiodiagnostics.com

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

ASPERGILLUS ICT IgG-IgM е бърз тест, базиран на имунохроматографската технология (страничен поток), позволяваща *едновременното откриване* на IgG и IgM клас антитела срещу *Аспергилус* в човешки серуми.

ПРИНЦИП НА ТЕСТА

ASPERGILLUS ICT IgG-IgM е индивидуален тест за еднократна употреба за качествена диагностика. Основана се на принципа на хомогенния сандвич (имунологична реакция на два еднакви антигенни епитопа с две места на свързване на бивалентни антитела).

Вътре в касетата устройството е съставено от:

- нитроцелуозна лента, върху която са разположени две реактивни ивици/линии: антигените (пречистени от култура на *Aspergillus fumigatus*) на „тест“ линията (Т-линия) и заешките гама глобулини на „контролната“ линия (С-линия);
- подложка от фибростъкло (подложка с конюгат), която е импрегнирана с частици от **черен латекс**, свързани с антигени на *Aspergillus fumigatus* („тест“ латекс = Т-латекс) и частици от **син латекс**, свързани с кози антизаешки IgG („контрола“ латекс = С-латекс).

Тестът се извършва чрез последователно разпределяне на серумната проба и елуиращия разтвор (наречен елуент) в „ямката за проби“ на касетата. Добавянето на елуента започва със съпътстващата миграция (хроматография) на серума и латексовите частици. Тази миграция завършва в рамките на 20-30 минути.

Ако специфичните антитела (IgG и/или IgM) присъстват в пробата, се формира комплекс между Т-латекс и антителата на пациента, които след това се улавят от Т-линията. Като резултат се появява **черна** линия: тестът е положителен.

Директното улавяне на С-латекса от С-линията води до появата на синя линия, което означава, че хроматографията е изпълнена добре. Появата на тази **синя линия** е систематична и независима от серологичния статус на пациента.

Двете букви "Т" и "С" са отпечатани върху касетата, посочвайки позицията на съответната зона за отчитане.

КОМПОНЕНТИ НА КИТА

ID	Описание	Опаковка	
		20 теста	100 теста
R1	Торбичка (запечатана + затваряне с цип) от 10готови за употреба касети + десикант	2	10
R2**	Бутилка с капкомер 3 mL елуиращ буфер	1	5
	Инструкции за употреба	1	1

** Елуент R2

- Пиктограми за опасност
- Сигнална дума: Внимание!



○ **Предупреждения за опасност**

Код	Предупреждение за опасност
H302	Вреден при поглъщане
H317	Може да причини алергична кожна реакция.

○ **Препоръки за безопасност**

Код	Превенция
P261	Избягвайте вдишване на аерозоли.
P264	Измийте ръцете старателно след употреба.
P270	Не яжте, не пийте и не пушете, когато боравите с този продукт.
P272	Не изнасяйте замърсено работно облекло извън работното помещение.
P280	Използвайте предпазни ръкавици и предпазно облекло.
	Интервенция
P301+P312+P330	ПРИ ПОГЛЪЩАНЕ: изплакнете устата. НЕ предизвиквайте повръщане. При неразположение се обадете в ЦЕНТЪР ПО ТОКСИКОЛОГИЯ/на лекар.
P302+P352 P333+P313 P363	ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА: измийте обилно със сапун и вода. При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: потърсете медицински съвет/ помощ. Изперете замърсеното облекло преди повторна употреба.
	Изхвърляне
P501	Изхвърлете съдържанието и съда в съответствие с приложимите разпоредби.

○ **Опасности, които не са класифицирани по друг начин**

EUN 032 При контакт с киселини се освобождава много токсичен газ.

EUN 210: Информационен лист за безопасност ще бъде представен при поискване, както и на нашия интернет адрес: www.ldbiodiagnostics.com.

СЪХРАНЕНИЕ И СТАБИЛНОСТ

- **Съхранявайте в оригиналната запечатана торбичка при температура от 2 до 8°C.** Касетата може да се използва до датата на годност, посочена на етикета върху торбичката. Не замразявайте. Не използвайте след срока на годност.
- **Първоначалното отваряне на торбичката с 10 теста трябва да се извърши поне 15 минути след** като сте я оставили да престои на стайна температура, за да се избегне кондензиране в торбичката.
- **Преди употреба оставете елуента да престои поне 15 минути на стайна температура.**
- **След първоначалното отваряне** на торбичката я съхранявайте при **стайна температура (18-30°C), плътно затворена** (със затворен цип), с поставен в нея десикант. След отварянето касетата може да се използва за период **до 2 месеца**.
- Елуентът е стабилен до 2 месеца, когато се съхранява при стайна температура (18-30°C) и до изтичане на срока на годност (както е посочено на кита), ако се съхранява при температура от 2 до 8°C.

ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ ПРИ УПОТРЕБА

Безопасност

- Само за *in vitro* употреба. Работете в съответствие с добрите лабораторни практики и считайте всеки реактив и всяка проба за потенциално токсични и/или инфекциозни.
- Само за професионална употреба. За употреба само от технически обучен лаборант.

- Всички серумни проби трябва да се разглеждат като потенциално инфекциозни и да се борави с тях внимателно.
- Носете лабораторна престилка, ръкавици и очила. Не пийте, не яжте и не пушете в лабораторията. Не слагайте пипетите в устата си.
- Изхвърлете отпадъците (проби, връхчета, епруветки, касети, използван реактив и т.н.) според добрите практики, използвани в индустрията и действащите в страната нормативни актове.
- Всеки сериозен инцидент следва да бъде съобщен на производителя, както и на компетентните органи.

Предпазни мерки

- Отчитайте и тълкувайте резултатите под пряка бяла светлина.
- Не използвайте елуент от други различни партиди.
- Не използвайте касети с два различни партидни номера в едно и също изследване на проба.
- Затваряйте флаконите след употреба. Не ги използвайте, ако в реактивите случайно е попаднало вещество. Не използвайте реактив от флакон с видими следи от протичане. Не използвайте мътен разтвор или такъв с утайка.
- Използвайте само връхчета за пипети за еднократна употреба. Избягвайте междукасетъчни замърсявания.
- Не използвайте реактивите след срока за годност.
- Неизползването на проба или използването на недостатъчен обем може да доведе до положителен или отрицателен резултат, независимо от действителния серологичен статус.
- Използвайте само касети, които са внимателно съхранявани в затворени торбички с поставен в тях десикант.

Вземане на серум и подготовка

- Тестът може да се извърши със серум или с плазма.
- Вземането на проби трябва да е стерилно и може да бъде извършено или в суха епруветка, или с хепарин, цитрат или EDTA.
- Не вземайте гел от епруветките с гел: това би довело до фалшиви положителни резултати.
- Избягвайте хемолизата, доколкото е възможно.
- До започване на работа съхранявайте пробите при температура от +2 до +8°C. Ако трябва да ги съхранявате за по-дълго време, замразете ги при температура под -15°C. Не използвайте замърсени проби. Избягвайте многократното замразяване и размразяване на пробите.

МЕТОДИКА НА ТЕСТА

Необходими допълнителни материали: микропипети и връхчета за еднократна употреба за обем от 15 µL, таймер.

Ако торбичките с 10 теста са били съхранявани при температура от 2-8°C, оставете ги да престоят поне 15 минути на стайна температура преди отварянето им: температурата трябва да достигне стайната, за да се избегне кондензиране в торбичката.

1. Извадете необходимия брой касети, след това затворете плътно торбичката, като използвате ципа (десикантът трябва да е поставен вътре) и изтласкайте колкото е възможно въздуха навън. **Затворете и съхранявайте торбичката при стайна температура в рамките до 2 месеца.**
2. **Определете всяка касета** с референтния номер на всяка от пробите, които ще изследвате. Не използвайте повече от 10 касети в един цикъл. Два последователни цикъла с по 10 касети трябва да са разделени от интервал от няколко минути, за да можете да извършите отчитането в препоръчаното време (използвайте 2 таймера).
3. Използвайте микропипети с връхчета за еднократна употреба за накапване на 15 µL серум или плазма в ямките на пробите. Направете същото за всички касети, преди да продължите към следващия етап.
4. Накапете **4 капки** от елуента от кита. **Не използвайте елуент с друг партиден номер.** Дръжте вертикално капкомера, докато накапвате. След употреба затворете капкомера.

5. Стартирайте таймера, когато сте разпределили елуента във всички касети за този цикъл.

ОТЧИТАНЕ И ТЪЛКУВАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Отчитането трябва да се осъществява близо до прозорец или на пряка светлина (например на настолна лампа). Избягвайте засенчване на зоната за отчитане.

Отчитането трябва да се извърши от 20 до 30 минути след стартирането на таймера.

Не вземайте под внимание резултати, отчетени след 30-та минута.

- **Положителен тест:** 2 линии, черна "Т" и синя "С", видими в съответната зона. Всяка "Т" линия трябва да се смята за положителна, дори и да е много слабо наситена на цвят. Когато линиите са много бледи, извършете визуалното отчитане вертикално над зоната за отчитане.
- **Отрицателен тест:** не се появява черна линия. Видима е само синята "С" линия.
- **Двусмислен /съмнителен/ тест:** в много редки случаи може да се появи бледа, неясна сива линия на "Т" зоната. Пробата трябва да бъде счетена за отрицателна, но резултатът следва да бъде проверен с друга проба или друга техника.
- **Невалиден тест:** "С" линията не се появява. Прочетете още веднъж инструкциите и повторете теста. Ако този проблем продължи да възниква, свържете се с производителя или с Вашия дистрибутор.

Внимание: това е качествен тест. Интензитетът на черната линия не отразява количеството на антитела срещу *Aspergillus* в пробата.

Положителният тест е доказателство за контакт на пациента с инфекциозен агент, но не може да определи датата на контакт или клиничния статус на пациента.

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

- Синята "С" линия дава възможност за успешно валидиране на проведения тест.
- Препоръчва се обаче от време на време да се включва известна слаба положителна проба в цикъла.

Внимание: при някои серуми е възможна появата на втора черна линия плътно до синята (=дублиране на "С" линията). Тази втора линия не влияе върху резултата от теста, който трябва да бъде отчетен единствено на "Т" линията.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ТЕСТА

- Не използвайте твърде стара серумна проба с тази техника. Препоръчително е да използвате проби, замразени преди по-малко от 2 години.
- Положителният резултат може да бъде породен от наличието на IgG и/или IgM срещу инфекциозния агент, като тестът не може да разграничи вида на наличните антитела.
- Употребата на други телесни течности (урина, ГМТ /CSF/, слюнка, цяла кръв и др.) не е валидирана.
- Не се препоръчва използването на хемолитични, иктерични или липемични проби. Не е регистрирана обаче никаква намеса в реакцията. Въпреки това при много хемолитични проби може да има скрит слаб положителен резултат заради важния червен фон от хемолизата.
- Не капете 3 или 5 капки елуент.
- **Не използвайте друг елуент, различен от предоставения с касетите (със същия партиден номер).**
- Не може да се установи диагноза за наличие на инфекциозен агент на базата на резултат от един тест.
- Серологичните резултати трябва да се тълкуват съобразно наличната информация (например епидемиологична, клинична, образна, биологична и т.н.), за да се установи диагноза.

ЕФЕКТИВНОСТ

Чувствителност, специфичност

Материали и методология

Оценката на кита е извършена проспективно в референтна лаборатория в болница, специализирана в диагностицирането на заболявания, причинени от *Аспергилюс*. ASPERGILLUS ICT IgG-IgM беше сравнен с две търговско достъпни техники, рутинно използвани от лабораториите: техниката ЕЛАЙЗА /ELISA/ (Orgentec®, Франция) и имуноелектрофореза /ImmunoElectroPhoresis/ (IEP; Sebia®, Франция).

Всяко едно досие на пациент беше изследвано и класифицирано съгласно диагностичния консенсус, като бяха използвани следните категории на заболяване: *Aspergillus* colonization, алергичната бронхопулмонална аспергилоза (ABPA), хронична белодробна аспергилоза (CPA) и всички други доказани заболявания, причинявани от *Аспергилюс*, обединени заедно (остра или субакутна аспергилоза, не-белодробна аспергилоза). Пациентите, които не попадат в посочените категории, са класифицирани като контроли.

Чувствителността и специфичността на всеки тест бяха изчислени съгласно съответните за тях 95% доверителни интервали (95CI) (метод на Уилсън).

Резултати

По време за изследването бяха събрани общо 263 проби: 44 случая и 219 контроли.

Тези 44 случая са класифицирани както следва: 6 ABPA, 23 колонизация, 11 CPA, 4 други (остра и субакутна аспергилоза).

Table 1 : Чувствителност

N = 44	ELISA	IEP	LDBIO ICT
Positive	20	35	40
Negative	15	9	4
Equivocal	9	0	0

Se [IC95]	57.1% [41-72%]	79.5% [66-89%]	90.9% [79-96%]
-----------	-------------------	-------------------	-------------------

Table 2 : Специфичност

N = 219	ELISA	IEP	LDBIO ICT
Positive	20	25	8
Negative	10	194	211
Equivocal	189	0	0

Sp [IC95]	92.6% [86-94%]	88.6% [84-92%]	96.3% [86-94%]
-----------	-------------------	-------------------	-------------------

Таблица 1 и 2: Резултатите от оценката за всички техники от всички серуми (n=263). При техниката "Елайза" двусмислените резултати бяха изключени от изчисляването на чувствителността/специфичността.

Заклучение

Съотношението между клиничния статус и LDBIO ICT беше много добро:

Чувствителност Se = 90.9% [95CI: 79-96%]

Специфичност Sp = 96.3% [95CI: 93-98%]

Възпроизводимост

Изследвана е възпроизводимостта между сериите и между партидите. И в двата случая съотношението серум към серум е отлично.

Интерференция/повлияване

Въпреки че не се наблюдава особена кръстосана реакция при хемолизирани, иктерични или липидни серуми, препоръчва се резултатите от такива проби да се тълкуват внимателно.

Списък с използвана литература

- Hunter E, Wilopo B, Richardson M, Kosmidis C, Denning D. 2021. « Effect of patient immunodeficiencies on the diagnostic performance of serological assays to detect *Aspergillus*-specific antibodies in chronic pulmonary aspergillosis ». *Respiratory Medicine* 178 (2021) 106290. doi:10.1016/j.rmed.2020.106290.
- Kwizera R, Katende A, Teu A, Apolot D, Worodria W, Kirenga B, Bongomin F. 2019. « Algorithm-aided diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis in low- and middle-income countries by use of a lateral flow device ». *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* (2020) 39:1–3. doi:10.1007/s10096-019-03782-x.
- Thornton CR. 2019. « Detection of the ‘Big Five’ mold killers of humans: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Lomentospora*, *Scedosporium* and *Mucormycetes* ». *Advances in Applied Microbiology*. doi:10.1016/bs.aambs.2019.10.003.
- Wilopo B, Richardson M, Denning D. 2019. « Diagnostic Aspects of Chronic Pulmonary Aspergillosis: Present and New Directions ». *Current Fungal Infection Reports* (2019) 13:292–300. doi:10.1007/s12281-019-00361-7.
- Denning D, Riniotis K, Dobrashian R, et Sambatakou H. 2003. « Chronic Cavitary and Fibrosing Pulmonary and Pleural Aspergillosis: Case Series, Proposed Nomenclature Change, and Review ». *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 37 Suppl 3 (octobre): S265-80. doi:10.1086/376526.
- De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards J, Calandra T, Pappas P, et al. 2008. « Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group ». *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 46 (12): 1813-21. doi:10.1086/588660.
- Hohl T, et Feldmesser M. 2007. « *Aspergillus Fumigatus*: Principles of Pathogenesis and Host Defense ». *Eukaryotic Cell* 6 (11): 1953-63. doi:10.1128/EC.00274-07.
- Oliva A, Flori P, Hennequin C, Dubus JC, Reynaud-Gaubert M, Charpin D, Vergnon JM, et al. 2015. « Evaluation of the *Aspergillus* Western Blot IgG Kit for Diagnosis of Chronic Aspergillosis ». *Journal of Clinical Microbiology* 53 (1): 248-54. doi:10.1128/JCM.02690-14.
- Persat F, 2012. « [Aspergillus serology, from yesterday to today for tomorrow] ». *Journal De Mycologie Médicale* 22 (1): 72-82. doi:10.1016/j.mycmed.2012.01.004. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00012>
- Piarroux R, Romain T, Martin A, Vainqueur D, Vitte J Lachaud L et al. 2019. « Multicenter Evaluation of a Novel Immunochromatographic Test for Anti-aspergillus IgG Detection ». *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2019;9:12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00012>
- Stucky Hunter E, Page I, Richardson M, Denning D. « Evaluation of the LDBio *Aspergillus* ICT lateral flow assay for serodiagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis ». *Plos One*. 15(9):e0238855 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238855>
- Stucky Hunter E, Richardson M, Denning D. « Evaluation of LDBio *Aspergillus* ICT Lateral Flow Assay for IgG and IgM Antibody Detection in Chronic Pulmonary Aspergillosis ». *Journal of Clinical Microbiology* 2019;57(9):e00538–19. <https://doi.org/10.1128/JCM.00538-19>.
- Zmeili O S, et Soubani AO. 2007. « Pulmonary Aspergillosis: A Clinical Update ». *QJM: Monthly Journal of the Association of Physicians* 100 (6): 317-34. doi:10.1093/qjmed/hcm035.

ИЗВЕСТИЕ ЗА АКТУАЛИЗАЦИЯ – Моля, прочете внимателно

ДАТА НА ПУБЛИКУВАНЕ	ВЕРСИЯ	ОБОБЩЕНИЕ НА ИЗМЕНЕНИЯТА
15.10/2021	Vs 06	Библио - допълнение ЕУН 032
20/11/2022	Vs07	Нов адрес
30/05/2023	Vs08	Актуализация на токсичността
02/10/2024	Vs09	цвет на името на продукта и номера на частта



NF EN ISO 13485

24 Av. Joannes MASSET – 69009 LYON – FRANCE
Tel : +33(0)4 7883 3487 – Fax : +33(0)4 7883 3430
www.ldbiodiagnostics.com – info@ldbiodiag.com