

ASPERGILLUS

CE



ICT IgG-IgM

Immun – chromatografischer Test für *in vitro* Diagnostika
Manuelle Technik

#ASPG Ab ICT20: 20 tests

#ASPG Ab ICT100: 100 tests

GEBRAUCHSANWEISUNG

Weitere Informationen und die Gebrauchsanweisung in Ihrer Sprache finden Sie auf
unserer Website www.ldbiodiagnostics.com

VERWENDUNGSZWECK

ASPERGILLUS ICT IgG-IgM ist ein Immunchromatografischer (Lateral Flow) Schnelltest, der den *gleichzeitigen* Nachweis von Anti-*Aspergillus*-Antikörpern der IgG- und IgM-Klasse in Humanseren ermöglicht.

TESTPRINZIP

ASPERGILLUS ICT IgG-IgM ist ein Test für die qualitative Diagnostik. Er basiert auf dem Prinzip der homogenen Sandwichtechnologie (immunologische Reaktion zweier gleicher Antigen-Epitope mit den beiden Bindungsstellen eines passenden Antikörpers).

Bestandteile der Testkassette:

- ein Nitrocellulosestreifen, auf dem zwei reaktive Banden vorhanden sind: die Testbande bestehend aus Antigenen (gereinigt aus einer *Aspergillus fumigatus*-Kultur / T-Bande) und die Kontrollbande bestehend aus Kaninchen-Gammaglobulinen (C-Bande),
- Ein Glasfaserträger (Konjugatpad), der mit **schwarzen Latexpartikeln** imprägniert ist, die mit *Aspergillus fumigatus*-Antigenen (Testlatex = T-Latex) und **blauen Latexpartikeln**, die mit Ziegen-Anti-Kaninchen-IgG (Kontrolllatex = C-Latex) gekoppelt sind.

Der Test wird durchgeführt, indem die Serumprobe und eine Elutionslösung (Testpuffer genannt) nacheinander in die "Probenvertiefung" der Kassette gegeben werden. Die Zugabe des Testpuffers startet die gleichzeitige Migration (Chromatographie) des Serums und der Latexpartikel. Diese Migration ist in 20-30 Minuten abgeschlossen.

Wenn spezifische Antikörper (IgG und / oder IgM) in der Probe vorhanden sind, wird ein Komplex zwischen dem T-Latex und den Antikörpern des Patienten gebildet, der dann von der T-Bande eingefangen wird. Es erscheint eine **schwarze Linie**: Der Test ist positiv.

Das direkte Einfangen des C-Latex durch die C-Bande führt zum Auftreten einer blauen Linie, was bedeutet, dass der Test korrekt durchgeführt wurde. Das Auftreten dieser **blauen Linie** ist zur Testkontrolle notwendig und unabhängig vom serologischen Status des Patienten.

Beide Buchstaben "T" und "C" sind auf der Kassette aufgedruckt, wodurch die Position des entsprechenden Lesebereichs markiert ist.

KIT-KOMPONENTEN

ID	Beschreibung	Verpackung	
		20 tests	100 tests
R1	Beutel (versiegelt + Druckverschluss) mit 10 gebrauchsfertigen Kassetten + einem Trockenmittel	2	10
R2**	Tropfflasche mit 3 mL Testpuffers	1	5
	Gebrauchsanweisung	1	1

**** Testpuffer genannt R2**

- **Gefahrenpiktogramme**



- **Signalwort: Achtung!**

○ **Gefahrenhinweise:**

Code	Gefahren
H302	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken
H317	Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

○ **Sicherheitshinweise:**

Code	Prävention
P261	Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.
P264	Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.
P270	Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.
P272	Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen.
P280	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
Intervention	
P301+ P312+P330	BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Mund ausspülen.
P302+P352 P333+P313 P363	BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen.
Entsorgung	
P501	Inhalt und Behälter gemäß den einschlägigen Vorschriften entsorgen

○ **Gefahren nicht anders klassifiziert (HNOC)**

EUH 032 Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.

EUH 210 Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage sowie auf unserer Website www.ldbiodiagnostics.com erhältlich.

LAGERUNG UND STABILITÄT

- **Lagern Sie den versiegelten Originalbeutel zwischen 2 und 8 ° C.** Kassetten können bis zu dem auf dem Beuteletikett angegebenen Verfallsdatum verwendet werden. Nicht einfrieren. Nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.
- Um Kondenswasser im Beutel zu vermeiden sollte die erste Öffnung erst geschehen, wenn er **Raumtemperatur erreicht hat (nach mindestens 15 Minuten).**
- **Lassen Sie das Testpuffers vor Gebrauch mindestens 15 Minuten bei Raumtemperatur stehen.**
- Bewahren Sie den Beutel **nach dem ersten Öffnen bei Raumtemperatur (18-30°C)** mit dem Trockenmittel und sorgfältig verschlossen (Druckverschluss) auf. Nach dem Öffnen können die Kassetten **bis zu 2 Monate verwendet** werden.
- Das Testpuffer ist bis zu 2 Monate bei Raumtemperatur (18-30°C) und bis zum Verfallsdatum (wie auf dem Kit angegeben) haltbar, wenn es zwischen 2 und 8°C aufbewahrt wird.

VORSICHTSMAßNAHMEN FÜR DEN GEBRAUCH

Sicherheit

- Nur zur *In-vitro*-Anwendung. Nach den Regeln der Guten Laborpraxis handhaben und jedes Reagenz und jede Probe als potentiell giftig und/oder infektiös betrachten.
- Nur für professionelle Anwendung. Nur für technisch geschultes Personal.
- Alle Serumproben müssen als potenziell infektiös eingestuft und mit Vorsicht behandelt werden.
- Tragen Sie einen Laborkittel, Handschuhe und eine Brille. Im Labor nicht trinken, essen oder rauchen. Pipetten nicht mit dem Mund öffnen.
- Entsorgen Sie Abfälle (Proben, Spitzen, Röhrchen, Kassetten, gebrauchte Reagenzien ...) gemäß den labormedizinischen und landesüblichen Vorschriften.
- Jeder schwerwiegende Zwischenfall muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde gemeldet werden.

Weitere Vorsichtsmaßnahmen und Hinweise

- Lesen und interpretieren Sie die Ergebnisse unter direktem weißem Licht.
- Verwenden Sie keine Reagenzien von einer anderen Chargennummer.
- Verwenden Sie keine Testkassetten mit zwei verschiedenen Chargennummern im gleichen Ansatz.
- Verschließen Sie die Fläschchen nach Gebrauch. Nicht verwenden, wenn versehentlich eine Substanz in die Reagenzien gelangt ist. Verwenden Sie kein Reagenz aus einem Fläschchen, welches Anzeichen von Undichtigkeiten aufweist. Keine trübe oder gefällte Lösung verwenden.
- Verwenden Sie nur Einwegpipettenspitzen. Vermeiden Sie Kontaminationen zwischen den Kassetten.
- Verwenden Sie keine Reagenzien nach dem Verfallsdatum.
- Das Auslassen einer Probe oder die Verteilung eines unzureichenden Volumens kann das Testergebnis, ungeachtet seines tatsächlichen serologischen Status, falsch positiv oder negativ beeinflussen.
- Verwenden Sie nur Kassetten, die sorgfältig im verschlossenen Beutel mit Trockenmittel aufbewahrt wurden.

SERUMENTNAHME und VORBEREITUNG

- Der Test kann entweder mit Serum oder Plasma durchgeführt werden.
- Die Probenentnahme muss steril durchgeführt werden und kann entweder mittels einem leerem Röhrchen oder mit Heparin, Citrat oder EDTA erfolgen.
- Bei Röhrchen mit Gel sollte die Aufnahme von Gel vermieden werden, da dies zu falsch positiven Ergebnissen führen kann.
- Vermeiden Sie möglichst eine Hämolyse.
- Bewahren Sie die Proben bei 2-8°C auf, bis sie verarbeitet sind. Wenn sie gelagert werden müssen, frieren Sie die Proben unter -15°C ein. Verwenden Sie keine kontaminierte Probe. Vermeiden Sie das wiederholte Einfrieren und Auftauen der Proben.

TESTDURCHFÜHRUNG

Benötigte aber nicht mitgelieferte Komponenten: Mikropipette für 15 µl, Stoppuhr

Wenn die Beutel mit 10 Tests bei 2-8°C gelagert werden, sollten sie vor dem Öffnen mindestens 15 Minuten lang bei Raumtemperatur belassen werden: Die Temperaturen gleichen sich aus, um eine Kondensation im Beutel zu vermeiden.

1. Nehmen Sie die gewünschte Anzahl Kassetten heraus und verschließen Sie den Beutel vorsichtig mit dem Druckverschluss (mit dem darin befindlichen Trockenmittelpaket), während Sie so viel Luft wie möglich herausdrücken. **Verschließen Sie den Beutel und lagern Sie ihn bis zu 2 Monate bei Raumtemperatur.**
2. **Markieren Sie jede Kassette mit der Referenz jeder zu testenden Probe.** Bearbeiten Sie nicht mehr als 10 Testkassetten gleichzeitig. Aufeinanderfolgende Durchläufe von 10 Kassetten müssen einige Minuten voneinander entfernt sein, um die Messung zu den empfohlenen Zeiten durchführen zu können (2 Stoppuhren verwenden).
3. Verwenden Sie eine Mikropipette mit einer Einwegspitze, um 15 µl Serum oder Plasma in die Probenvertiefung zu geben. Tun Sie dies für alle Kassetten, bevor Sie mit dem nächsten Schritt fortfahren.
4. Geben Sie **4 Tropfen** des Probenpuffers dazu. **Verwenden Sie nicht den Probenpuffer einer anderen Chargennummer.** Halten Sie die Pipette während der Ausgabe senkrecht. Schließen Sie die Tropfflasche nach Gebrauch.
5. Starten Sie die Stoppuhr, wenn der Probenpuffer in alle Kassetten des Ansatzes gegeben wurde.

AUSWERTEN und INTERPRETIEREN

Das Auswerten muss in der Nähe eines Fensters oder unter direktem Licht erfolgen (Beispiel: eine Schreibtischlampe). Vermeiden Sie Schatten auf der Lesefläche.

Die Messung muss zwischen 20 und 30 Minuten nach dem Start der Stoppuhr erfolgen.

Verwenden Sie keine Ergebnisse von Ablesungen nach mehr als 30 Minuten.

- **Positiver Test:** In den entsprechenden Bereichen erscheinen 2 Linien, eine **schwarze Linie** „T“ und eine blaue Linie „C“. Jede "T" -Linie muss als positiv angesehen werden, auch wenn sie sehr schwach ist. Halten Sie bei sehr schwachen Linien die Augen senkrecht über den Lesebereich.
- **Negativer Test:** Es erscheint keine schwarze Linie. Es ist nur die blaue Linie „C“ sichtbar.
- **Unklare Ergebnisse:** In sehr seltenen Fällen kann eine schwache, diffuse, graue Linie auf der „T“-Bande erscheinen. Dieses Ergebnis sollte als negativ angesehen werden, jedoch mit einer anderen Probe oder Technik kontrolliert werden.
- **Ungültiger Test:** Die Bande „C“ wird nicht angezeigt. Lesen Sie noch einmal die Anleitung und wiederholen Sie den Test. Wenn das Problem weiterhin besteht, wenden Sie sich an den Hersteller oder Ihren Händler.

Anmerkungen: Dies ist ein qualitativer Test. Die Intensität der schwarzen Linie gibt nicht die Menge der spezifischen Antikörper in der Probe an.

Die Positivität des Tests ist ein Beweis für den Kontakt des Patienten mit dem infektiösen Erreger, lässt jedoch keinen Rückschluss auf das Kontaktdatum und den klinischen Status des Patienten zu.

QUALITÄTSKONTROLLE

- Die blaue "C" -Linie ermöglicht die Bestätigung des ordnungsgemäßen Ablaufs des Tests.
- Es wird jedoch empfohlen, von Zeit zu Zeit eine bekannte schwach positive Probe in einen Lauf einzubauen.

Hinweis: Bei einigen Seren ist eine zweite schwarze und an die blaue Bande angehängte Bande zu sehen (= Verdopplung der C-Bande). Das zweite Band beeinträchtigt nicht das Testergebnis, das nur in der Zeile „T“ abgelesen werden sollte.

TESTEINSCHRÄNKUNGEN

- Verwenden Sie bei dieser Technik keine zu alten Serumproben. Es wird empfohlen, Proben zu verwenden, die weniger als 2 Jahre eingefroren wurden. Die Positivität kann durch das Vorhandensein von IgG und / oder IgM, die gegen das infektiöse Mittel gerichtet sind, verursacht werden. Der Test unterscheidet nicht die Art der vorhandenen Antikörper.
- Die Verwendung anderer Körperflüssigkeiten (Urin, Liquor, Speichel, Vollblut...) wurde nicht validiert.
- Die Verwendung von hämolytischen, ikterischen oder lipidischen Proben wird nicht empfohlen. Es wurde jedoch keine Störung der Reaktion aufgezeichnet. Trotzdem können sehr hämolytische Proben einen schwach positiven Test verbergen, da die Hämolyse einen deutlich roten Hintergrund aufweist.
- Verwenden sie nicht 3 oder 5 Tropfen vom Probenpuffer.
- **Verwenden Sie keinen anderen Probenpuffer als den mit den Kassetten gelieferter (gleicher Chargennummer).**
- Die Diagnose einer Infektionskrankheit kann nicht auf der Grundlage der Ergebnisse eines einzelnen Tests gestellt werden.
- Serologische Ergebnisse müssen gemäß den verfügbaren Informationen (z. B. Epidemiologie, klinische, bildgebende Verfahren, Biologie usw.) interpretiert werden, um eine Diagnose zu erstellen.

LEISTUNG

Sensitivät und Spezifität

Material und Methoden

Die Bewertung des Kits erfolgte prospektiv in einem Referenzlabor in einem Krankenhaus, welches auf die Diagnose von Aspergillus-Erkrankungen spezialisiert war. ASPERGILLUS ICT IgG-IgM wurde mit zwei im Labor routinemäßig verwendeten handelsüblichen Techniken verglichen: einer ELISA-Technik (Orgentec®, Frankreich) und einer ImmunoElectroPhoresis (IEP; Sebia®, Frankreich).

Jede Patientenakte wurde nach diagnostischem Konsens untersucht und klassifiziert. Die folgenden Krankheitskategorien wurden verwendet: Aspergillus-Kolonisation, allergische broncho-pulmonale Aspergillose

(ABPA), chronische pulmonale Aspergillose (CPA) und alle anderen nachgewiesenen Aspergillus-Erkrankungen, die zusammengelegt wurden (akute oder subakute Aspergillose, nicht-pulmonale Aspergillose). Patienten, die auf keine Klassifizierung ansprachen, wurden als Kontrollen eingestuft.

Die Sensitivität und Spezifität jedes Tests wurde mit den entsprechenden 95% -Konfidenzintervallen (95CI) (Wilson-Methode) berechnet.

Ergebnisse

Während der Studie wurden 263 Proben entnommen: 44 Fälle und 219 Kontrollen.

Die 44 Fälle wurden wie folgt klassifiziert: 6 ABPA, 23 Kolonisation, 11 CPA, 4 andere (akute und subakute Aspergillose).

Table 1 : Sensitivität

N = 44	ELISA	IEP	LDBIO ICT
Positiv	20	35	40
Negativ	15	9	4
Zweideutig	9	0	0

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

Table 2 : Spezifität

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%]
-----------	-------------------	-------------------	-------------------

Tabellen 1 und 2: Ergebnisse der Bewertung für alle Techniken an allen Seren (n=263. Für Elisa wurden zweideutige Ergebnisse von den Sensitivitäts-/Spezifitätsberechnungen ausgeschlossen.

Fazit

Die Korrelation zwischen klinischem Status und LDBIO-IKT war sehr gut:

Sensitivität Se = 90,9% [95CI: 79-96%]

Spezifität Sp = 96,3% [95CI: 93-98%]

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit zwischen Serien und Chargen wurde getestet. In beiden Fällen ist die Korrelation von Serum zu Serum hervorragend.

Störungen

Obwohl bei hämolysierten, ikterischen oder lipidischen Seren keine besondere Kreuzreaktion beobachtet wurde, wird empfohlen, die Ergebnisse bei Verwendung solcher Proben mit Vorsicht zu interpretieren

LITERATUR

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.

UPDATE-BENACHRICHTIGUNG - bitte sorgfältig lesen

VERÖFFENTLICHUNGSDATUM	VERSION	SÄNDERUNGS-ZUSAMMENFASSUNG
26/08/2021	Vs 05	Referenzkit 100 Tests hinzufügen – Kontakt E-Mail Adresse –
15/10/2021	Vs 06	literatur - EUH032
20/11/2022	Vs07	Neue Adresse
30/05/2023	Vs08	Update zur Toxizität



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