

ASPERGILLUS

CE



ICT IgG-IgM

Test rapido immunocromatografico per uso diagnostico *in vitro*
Tecnica manuale

#ASPG Ab ICT20: 20 tests

#ASPG Ab ICT100: 100 tests

ISTRUZIONI PER L'USO

Per ulteriori informazioni e istruzioni per l'uso nella tua lingua, visita il nostro sito Web
www.ldbiodiagnostics.com

DESTINAZIONE D'USO

ASPERGILLUS ICT IgG-IgM è un test rapido basato sulla tecnologia immuno-cromatografia (lateral-flow), che permette la rilevazione simultanea di entrambe le classi IgG e IgM anti-*Aspergillus* in sieri umani

PRINCIPIO DEL TEST

ASPERGILLUS ICT IgG-IgM è un test singolo per una diagnosi qualitativa. Si basa sul principio del sandwich omogeneo (reazione immunologica di due stessi epitopi antigenici con i due siti di legame di un anticorpo bivalente).

All'interno della cassetta, il dispositivo è composto da:

- una striscia di nitrocellulosa sul quale sono posizionate due bande reattive: gli antigeni (purificato da una cultura di *Aspergillus fumigatus*) della banda "test" (banda T) e le gammaglobuline di coniglio della banda "controllo" (banda C),
- un supporto in fibra di vetro (tampone coniugato), che è impregnato di **particelle nera di lattice** coniugato con antigeni di *Aspergillus fumigatus* ("test" in lattice = T lattice) e **particelle di lattice blu** coniugato con IgG di capra anti-coniglio ("controllo" lattice = C lattice).

Il test viene eseguito dispensando in successione il campione di siero e una soluzione diluente (chiamato diluente) nel "pozzetto campione" della cassetta. L'aggiunta del diluente avvia la contemporanea migrazione (cromatografia) del siero e delle particelle di lattice. Questa migrazione viene completata in 20-30 minuti.

Se gli anticorpi specifici (IgG e / o IgM) sono presenti nel campione, si forma un complesso tra il lattice T e gli anticorpi del paziente che viene poi catturato dalla banda T. Il risultato è la presenza di **una linea nera**: il test è positivo.

La cattura diretta del lattice C sulla banda C si evidenzia nella comparsa di **una linea blu**, significa che la cromatografia è eseguita bene. L'aspetto di questa linea blu è sistematico e indipendente dallo stato sierologico del paziente.

Entrambe le lettere "T" e "C" sono stampate sul telaio di plastica della cassetta, e indicano la posizione dell'area di lettura corrispondente.

COMPONENTI DEL KIT

ID	Descrizione	Imballaggio	
		20 test	100 test
R1	Sacchetto (sigillato + zip) di 10 cassette pronte all'uso + un essiccante	2	10
R2**	Bottiglia contagocce di 3 mL di tampone di eluizione	1	5
	Istruzioni per l'uso	1	1

** Diluente R2

- **Pittogrammi di pericolo**
- **Avvertenze:** Attenzione!



○ **Indicazioni di pericolo:**

Code	Pericolo
H302	Nocivo se ingerito.
H317	Può provocare una reazione allergica cutanea

○ **Consigli di prudenza:**

Code	Prevenzione
P261	Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
P264	Lavare accuratamente mani opo l'uso.
P270	Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso.
P272	Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
Reazione	
P301+ P312+P330	IN CASO DI INGESTIONE accompagnata da malessere: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Sruthlaítear an béal.
P302+P352 P333+P313 P363	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente.
Smaltimento	
P501	Smaltire il contenuto e il contenitore in conformità con le normative pertinenti

○ **Pericoli non altrimenti classificati (HNOC)**

EUH 032 A contatto con acidi libera gas molto tossici.

EUH 210 Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta e sul nostro sito web www.ldbiodiagnostics.com.

STOCCAGGIO E STABILITÀ

- **Conservare la sacca originale sigillata tra 2 e 8 ° C.** Le cassette possono essere utilizzate fino alla data di scadenza scritta sull'etichetta. Non congelare. Non utilizzare dopo la data di scadenza.
- **La prima apertura di un sacchetto di 10 test deve avvenire almeno 15 minuti dopo aver messo il sacchetto a temperatura ambiente,** al fine di evitare la condensa.
- **Lasciare che l'eluente rimanga almeno 15 minuti a temperatura ambiente prima dell'uso.**
- **Dopo la prima apertura di un sacchetto (contenente 10 test), mantenerlo a temperatura ambiente (18-30 ° C), chiudere accuratamente la zip di chiusura,** con l'essiccante all'interno. Dopo l'apertura, le cassette possono essere utilizzate **per un massimo di due mesi.**
- Il diluente si conserva due mesi a temperatura ambiente (18-30°C) e fino alla data di scadenza indicata sul kit se conservato tra i 2 e 8°C.

PRECAUZIONI D'USO

Sicurezza

- Solo per utilizzo *in vitro*. Utilizzare secondo le buone pratiche di laboratorio e considerare qualsiasi reagente e ogni campione come potenzialmente tossici e / o infettivi.
- Solo per uso professionale. Solo per personale tecnicamente preparato.
- Tutti i campioni di siero devono essere considerati come potenzialmente infettivi e maneggiati con cura.
- Indossare un camice da laboratorio, guanti e occhiali; non bere, mangiare o fumare in laboratorio. Non pipettare a bocca.
- Smaltire i rifiuti (campioni, puntali, provette, cassette, reagente utilizzato...) secondo le buone pratiche utilizzate nel settore e norme vigenti nel paese.
- Ogni incidente grave deve essere oggetto di una dichiarazione al fabbricante e all'autorità competente.

Precauzioni

- Leggere e interpretare i risultati alla luce bianca diretta.
- Non utilizzare diluente di un altro numero di lotto.
- Non usare le cassette di lotti diversi nella stessa seduta.
- Chiudere i flaconi dopo l'uso; non utilizzare se una sostanza è stata accidentalmente introdotta nei reagenti. Non utilizzare il reagente da una fiala che presenta segni di perdite. Non usare la soluzione torbida o con precipitato.
- Usare solo puntali/pipette monouso. Evitare qualsiasi contaminazione inter-cassetta.
- Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza.
- L'omissione di un campione o la distribuzione di un volume insufficiente può rendere il risultato positivo o negativo, a prescindere dal suo stato sierologico reale.
- Utilizzare solo cassette accuratamente conservate nella loro borsa chiusa, con il pacchetto essiccante all'interno.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

- Il test può essere effettuato sia con siero o plasma eparinizzato.
- La raccolta del campione deve essere sterile e può essere effettuata sia su provetta senza anticoagulante che con eparina citrato o EDTA.
- Su provette con il gel, non raccogliere gel: potrebbe causare falsi positivi. Evitare emolisi quanto possibile.
- Evita il più possibile l'emolisi.
- Conservare i campioni a 2-8 ° C fino a quando non vengono analizzati. Se devono essere conservati, congelare i campioni a una temperatura inferiore a -15°C. Non utilizzare un campione contaminato. Evitare congelamento e scongelamento dei campioni più volte.

PROCEDURA DEL TEST

Materiale aggiuntivo richiesto: micropipetta e puntali monouso per dispensare volumi di 15µL, timer.

Se i sacchetti di 10 test sono conservati a 2-8 ° C, tenere almeno 15 minuti a temperatura ambiente prima dell'apertura: la temperatura del sacchetto deve raggiungere la temperatura ambiente per evitare la formazione di condensa.

1. Estrarre il numero desiderato di cassette, quindi chiudere accuratamente il sacchetto con la chiusura a zip (con il pacchetto essiccante all'interno) mentre si estrae quanta più aria possibile. **Conservare il sacchetto una volta aperto e il diluente a temperatura ambiente per massimo 2 mesi.**
2. **Identificare ogni cassetta** con il riferimento di ciascun campione da testare. Non effettuare sedute lavorative con più di 10 cassette. Due prove successive di 10 cassette devono essere effettuate dopo pochi minuti al fine di poter effettuare la lettura ai tempi consigliati (uso di 2 timer).
3. Utilizzare una micropipetta con una punta monouso per dispensare 15µL di siero o plasma nel pozzetto campione. Farlo per tutte le cassette della stessa serie prima di passare alla fase successiva.
4. Dispensare **4 gocce** di diluente presente nel kit. **Non utilizzare il liquido di diluizione di un altro numero di lotto.** Tenere il contagocce in posizione verticale durante l'erogazione. Chiudere il contagocce dopo l'uso.
5. Avviare il timer quando il diluente viene distribuito in tutte le cassette della seduta.

LETTURA E INTERPRETAZIONE

La lettura deve essere fatta vicino ad una finestra o sotto la luce diretta (cioè una lampada da tavolo). Evitare ombre sulla zona di lettura.

La lettura deve essere effettuata tra 20 e 30 minuti dopo l'inizio del timer.

Non tener conto dei risultati di letture dopo 30 minuti.

- **Test positivo:** 2 linee, una nera "T" e una blu "C" compaiono nelle aree corrispondenti. Ogni linea "T" deve essere considerata positiva, anche se di intensità molto debole. Per le linee molto deboli, effettuare la lettura con l'occhio in posizione verticale sopra l'area di lettura.
- **Test negativo:** Non appare la linea nera. Solo la linea blu "C" è visibile.
- **Test Equivoco:** in casi molto rari, potrebbe comparire una linea grigia diffusa sulla banda T. Questo risultato è da considerare come negativo ma è da ricontrollare con un ulteriore prelievo o con un'altra tecnica.
- **Test non valido:** non appare la linea "C". Leggere ancora una volta le istruzioni e ripetere il test. Se il problema persiste, contattare il produttore o il distributore.

Note: Questo è un test qualitativo. L'intensità della linea nera non riflette la quantità di anticorpi specifici nel campione.

La positività del test è la prova del contatto del paziente con la malattia infettiva ma non indica la data del contatto o lo stato clinico del paziente.

CONTROLLO QUALITÀ

- La linea blu "C" permette la validazione del buon funzionamento del test.
- Tuttavia si raccomanda di inserire in ogni seduta un campione debole positivo noto.

Nota: su alcuni sieri, a volte potrebbe apparire una seconda banda, nera e contigua alla banda blu (= duplicazione banda "C"). Questa seconda banda non influisce sul risultato del test, che dovrebbe essere letto solo nella zona "T".

LIMITAZIONI DEL TEST

- Non usare un campione di siero troppo vecchio con questa tecnica. Si raccomanda di utilizzare campioni congelati da meno di 2 anni.
- La positività può essere causata dalla presenza di IgG e / o IgM specifici, e il test si basa sul principio di agglutinazione.
- L'uso di altri fluidi corporei (urina, liquor, saliva, sangue intero ...) non è stato convalidato.
- L'uso di campioni emolitici, itterici o lipidici non è raccomandato. Tuttavia, non è stata registrata alcuna interferenza nella reazione. Inoltre, i campioni molto emolitici possono nascondere un test debole positivo, a causa di un forte fondo rosso da emolisi.
- Non erogare 3 o 5 gocce di diluente.
- **Utilizzare il diluente esclusivamente con le cassette della stessa confezione (stesso numero di lotto)**
- la diagnosi di una malattia infettiva non può essere stabilita in base al risultato di un solo test.
- i risultati sierologici devono essere interpretati in base alle informazioni disponibili (es: epidemiologia, clinica, risonanza, biologia...) per stabilire una diagnosi.

PRESTAZIONI

Sensibilità, Specificità

Metodologia

La valutazione del kit è stata fatta in maniera prospettiva in un centro ospedaliero di riferimento nel trattamento di malattie di aspergiillus. Il kit Aspergillus ICT IgG-IgM è stato comparato a due tecniche commerciali utilizzate in routine di laboratorio: un Elisa (Orgentec®, France) e un ImmunoElectroPhorèse (IEP ; Sebia®, France).

Ogni tecnica è stata studiata e classificata secondo il consenso diagnostico in vigore tra la colonizzazione aspergillare cronica, Aspergilloso BroncoPolmonare Allergica (ABPA), Aspergilloso Polmonare Cronica (APC) e ogni altra forma di aspergillus trovata (aspergillo invasivo acuto o meno acuto, aspergillo circoscritto non polmonare). I pazienti non corrispondenti a nessuna classificazione sono stati classificati come controlli.

La sensibilità e la specificità di ogni test è stato calcolato, così che i loro intervalli di confidenza (appropriatezza) è del 95% (Metodo di Wilson).

Risultati

263 campioni sono stati raccolti durante lo studio: 44 casi e 219 controlli.

I 44 casi sono divisi come segue: 6 ABPA, 23 colonizzazioni, 11 APC, 4 altre forme (aspergilloso invasiva acuta o sub-acuta).

Table 1 : Sensibilità

N = 44	ELISA	IEP	LDBIO ICT
Positivi	20	35	40
Negativi	15	9	4
Equivoco	9	0	0

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

Table 2 : Specificità

N = 219	ELISA	IEP	LDBIO ICT
Positivi	20	25	8
Negativi	10	194	211
Equivoco	189	0	0

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

Tables 1 and 2: Risultati delle valutazioni di ogni tecnica sull'insieme dei sieri (n=263). Per l'Elisa, i risultati equivoci sono stati esclusi dal calcolo della sensibilità e della specificità.

Conclusione

La correlazione tra la clinica e il test LDBIO ICT è molto soddisfacente:

Sensibilità Se= 90,9% [IC95 : 79-96%].

Specificità Sp= 96,3% [IC95 : 93-98%].

Riproducibilità

Riproducibilità inter-serie e inter-lotto sono stati effettuate. In entrambi i casi, la correlazione siero-siero è eccellente.

Interferenze

Anche se nessuna particolare cross-reazione è stata osservata con sieri emolizzati, itterici o lipidica, si raccomanda di interpretare i risultati di tali campioni con cura.

BIBLIOGRAFIA

- 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 NOTIFICATION – Please read carefully

<i>DATA DI RILASCIO</i>	<i>VERSIONE</i>	<i>RIEPILOGO DELLE MODIFICHE</i>
21/08/2021	Vs 05	Aggiungere kit di riferimento 100 test - e-mail di contatto –
15/10/2021	Vs 06	Biblio - EUH032
20/11/2022	Vs07	Nuovo indirizzo
30/05/2023	Vs08	Aggiornamento della tossicità



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