

ASPERGILLUS

CE



ICT IgG-IgM

Ensaio imuno-cromatográfico de diagnóstico *in vitro*
Técnica manual

#ASPG Ab ICT20: 20 testes

#ASPG Ab ICT100: 100 testes

INSTRUÇÕES DE USO



Encontre mais informações e instruções de uso no seu idioma no nosso website
www.ldbiodiagnostics.com

USO PRETENDIDO

ASPERGILLUS ICT IgG-IgM é um teste rápido baseado na tecnologia de imunocromatografia (fluxo lateral), permitindo a *deteção simultânea* de ambas as classes de anticorpos IgG e IgM anti-*Aspergillus* em soro humano.

PRINCÍPIO DO TESTE

ASPERGILLUS ICT IgG-IgM é um teste unitário de uso único para um diagnóstico qualitativo. É baseado no princípio de *sandwich* homogênea (reação imunológica de 2 epítopes antigénicos semelhantes com os dois locais de ligação de um anticorpo bivalente).

Dentro da cassette, o dispositivo é composto por:

- Uma tira de nitrocelulose na qual estão duas bandas reativas: os antígenos (purificado de uma cultura de *Aspergillus fumigatus*) da banda de “teste” (banda T) e as gamaglobulinas de Coelho da banda de “controlo” (banda C),
- Um suporte de fibra de vidro (bloco conjugado) impregnado de partículas de **látex pretas** conjugadas com antígenos *A. fumigatus* (látex “teste” = látex T) e partículas de **látex azul** conjugadas com IgG anti-coelho de cabra. (Látex “controlo” = látex C).

O teste é realizado por dispensação do soro de amostra e uma solução de eluição (eluente), sucessivamente, no poço da amostra da cassette. Adicionando o eluente, inicia-se a migração concomitante (cromatografia) do soro e das partículas de látex. Esta migração fica completa em 20-30 minutos.

Se os anticorpos (IgG e/ou IgM) específicos estão presentes na amostra, é formado um complexo entre o látex T e os anticorpos do paciente que são capturados pela banda T. Disto resulta o aparecimento de uma **linha preta**: o teste é positivo.

A captura direta do látex C pela banda C resulta no aparecimento de uma linha azul, significando que a cromatografia decorreu com normalidade. O aparecimento desta **linha azul** é sistemático e independente do estado serológico do paciente.

Ambas as letras “T” e “C” estão impressas na cassette, materializando a posição da área de leitura correspondente.

COMPONENTES DO KIT

ID	Descrição	Embalagem	
		20 testes	100 testes
R1	Saco (selado + fecho) de 10 cassetes prontas a usar + um dessecante	2	10
R2**	3 mL frasco conta-gotas de tampão de eluição	1	5
	Instruções de utilização	1	1

**** Tampão de eluição R2**

- **Pictogramas de perigo:**



- **Palavras de sinalização:** Atenção !

- **Declarações de perigoHazard**

Código	Perigo
H302	Perigoso se ingerido
H317	Pode provocar uma reação alérgica cutânea.

- **Declarações de precaução**

Código	Prevenção
P261	Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/ vapores/aerossóis.
P264	Lavar bem as mãos após o manuseio
P270	Não comer, beber ou fumar durante o uso do produto
P272	A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho
P280	Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/ proteção ocular/proteção facial.
	Resposta
P301+ P312+P330	EM CASO DE INGESTÃO: enxaguar a boca. NÃO induza o vômito. Ligue para um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou médico se você se sentir mal.
P302+P352 P333+P313 P363	SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com água/sabão Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar.
	Eliminação
P501	Descarte o conteúdo / recipiente de acordo com a regulamentação local

- **Riscos não classificados de outra forma (HNOC)**

EUH 032 O contato com ácidos libera gases muito tóxicos.

EUH 210 Ficha de dados de segurança disponível sob pedido assim como no nosso website

www.ldbiodiagnostics.com.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

- **Armazene a embalagem original selada entre 2 e 8°C.** As cassetes podem ser usadas até à data de validade escrita na etiqueta da embalagem. Não congelar. Não usar após a data de validade.
- **A primeira abertura de um saco de 10 testes deve ocorrer pelo menos 15 minutos depois** de colocar a embalagem à temperatura ambiente de forma a evitar condensação dentro da embalagem.
- **Permita que o eluente permaneça pelo menos 15 minutos à temperatura ambiente antes de usar.**
- **Após a primeira abertura** da embalagem, mantenha-a à **temperatura ambiente (18-30°C), cuidadosamente fechada** (fechada com zip), com o pacote dessecante no seu interior. Após a abertura, as cassetes podem ser usadas **até 2 meses**.
- O eluente é estável até 2 meses à temperatura ambiente (18-30°C) e até à data de validade (especificado no kit) se mantido entre 2 e 8°C.

PRECAUÇÕES DE USO

Segurança

- Apenas para uso *in vitro*. Manipular de acordo com as Boas Práticas de Laboratório e considere qualquer reagente e qualquer amostra como potencialmente tóxico e/ou infeccioso.
- Apenas para uso profissional. Apenas para técnicos devidamente qualificados.
- Todas as amostras de soro devem ser consideradas como potencialmente infecciosas e manipuladas com cuidado.
- Use bata, luvas e óculos de proteção; não beba, coma ou fume no laboratório. Não pipete com a boca.

- Descarte os resíduos (amostras, pontas, tubos, cassetes, reagentes usados...) de acordo com as boas práticas usadas no setor e regulamentações em vigor no país.
- Qualquer incidente grave deve ser declarado ao fabricante e às autoridades competentes.

Precauções

- Leia e interprete os resultados sob luz branca direta.
- Não use eluentes de números de lote diferentes.
- Não use cassetes de dois números de lote diferentes na mesma corrida.
- Feche os frascos depois de usar; não usar se alguma substância for acidentalmente introduzida nos reagentes. Não use um reagente de um frasco que aparente ter sinais de vazamento. Não use soluções turvas ou precipitadas.
- Use apenas pontas de pipeta descartáveis. Evite qualquer contaminação entre cassetes.
- Não use reagentes fora do prazo de validade.
- A omissão de amostra ou a distribuição de um volume inadequado pode levar a resultados de teste positivos ou negativos independentemente do verdadeiro estado serológico.
- Use apenas cassetes cuidadosamente armazenadas na sua embalagem fechada com o pacote dessecante no seu interior.

RECOLHA DE SORO E PREPARAÇÃO

- O teste pode ser realizado quer com soro quer com plasma.
- A colheita da amostra deve ser estéril e pode ser realizada em tubo seco ou com heparina, citrato ou EDTA .
- Em tubos com gel, não recolha gel: poderá levar a falsos positivos.
- Evite hemólise tanto quanto possível.
- Mantenha as amostras a 2-8 °C até serem processadas. Se necessitarem de ser armazenadas, congele abaixo de -15°C. Não use amostras contaminadas. Evite ciclos de congelação/descongelação repetidos.

PROCEDIMENTO DO TESTE

Material necessário adicional: micropipeta e pontas descartáveis para dispensar volumes de 15µL; temporizador.

Se as embalagens de 10 testes estão mantidas a 2-8°C, coloque-as 15 minutos à temperatura ambiente antes de abrir: a temperatura da embalagem deve estabilizar com a temperatura ambiente para evitar a condensação da embalagem.

1. Retire o número necessário de cassetes, depois feche cuidadosamente a embalagem com o fecho zip (com o dessecante no interior) enquanto retira o máximo de ar possível. **Feche e armazene a embalagem a temperatura ambiente por um período máximo de 2 meses.**
2. **Identifique cada cassete** com a referência de cada amostra a ser testada, não faça corridas com mais de 10 cassetes. Duas sucessivas corridas de 10 cassetes devem ser separadas por alguns minutos de forma a poder ser feita a leitura nos tempos recomendados (use 2 temporizadores).
3. Use uma micropipeta com uma ponta descartável para dispensar 15µL de soro ou plasma no poço para a amostra. Faça o mesmo para todas as cassetes antes de prosseguir para o passo seguinte.
4. Dispense **4 gotas** de eluente do kit. **Não use eluente de um lote diferente.** Mantenha o dispensador verticalmente enquanto dispensa. Feche o dispensador depois de usar.
5. Comece a contar o tempo quando o eluente é dispensado em todas as cassetes da corrida.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO

A leitura deve ser efetuada próximo de uma janela ou sob luz branca direta (exemplo: uma lâmpada de secretária). Evite sombras na área de leitura.

A leitura deve ser efetuada entre 20 a 30 minutos depois de se inicializar o temporizador.

Não tenha em consideração resultados de leituras efetuadas depois de 30 minutos.

- **Teste Positivo:** 2 linhas, uma preta “T” e uma azul “C” aparecem nas áreas correspondentes. Todas as linhas “T” devem ser consideradas positivas, mesmo que tenham uma intensidade muito ténue. Para linhas muito ténues, realize a leitura com o olho verticalmente acima da área de leitura.
- **Teste Negativo:** Não aparece nenhuma linha preta. Apenas a linha “C” é visível.
- **Teste Ambíguo:** Em casos muito raros, uma linha cinzenta, esbatida e difusa pode aparecer na banda “T”. Este resultado deve ser considerado negativo mas confirmado com nova amostra ou técnica.
- **Teste Inválido:** A linha “C” não aparece. Leia uma vez mais as instruções e repita o teste. Se o problema persistir, contacte o fabricante ou o seu distribuidor.

Notas: Este é um teste qualitativo. A intensidade da linha preta não reflete a quantidade de anticorpos anti-*Aspergillus* na amostra.

Um teste positivo prova que existiu contacto do doente com o agente infeccioso mas não determina a data de contacto ou o estado clínico do paciente.

CONTROLO DE QUALIDADE

- A linha azul “C” permite a validação de uma boa corrida do teste.
- No entanto, é recomendada a incorporação, de tempos a tempos, de uma amostra positiva fraca conhecida na corrida.

Nota: Com alguns soros pode ser visualizada uma segunda banda preta ligada à banda azul (=Duplicação da banda “C”). A segunda banda não prejudica o resultado do teste que deve ser lido apenas na linha “T”.

LIMITAÇÕES DO TESTE

- Não use soro com demasiado tempo com esta técnica. É recomendado o uso de amostras congeladas com menos de 2 anos.
- A positividade pode ser causada pela presença de IgG e/ou IgM direcionados contra o agente infeccioso, o teste não distingue o tipo de anticorpos presentes.
- O uso de outros fluidos corporais (urina, LCR, saliva, sangue total...) não foi validado.
- O uso de amostras hemolisadas, ictéricas ou lipídicas não é recomendado (§ Interferências). Amostras muito hemolisadas podem mascarar um teste positivo fraco, devido à significativa coloração vermelha da hemólise.
- Não dispense 3 ou 5 gotas de eluente.
- **Não use eluente diferente do que foi fornecido com as cassetes (mesmo número de lote).**
- O diagnóstico de uma doença infecciosa não pode ser estabelecido com base nos resultados de um único teste.
- Os resultados serológicos devem ser interpretados de acordo com a informação disponível (p.e., epidemiologia, clínica, imagiológica, biológica, etc.) de forma a estabelecer um diagnóstico.

DESEMPENHO

Sensibilidade, Especificidade

Material e métodos

A avaliação do kit foi feita prospectivamente num laboratório hospitalar de referência especializado no diagnóstico de doenças relacionadas com *Aspergillus*. **ASPERGILLUS ICT IgG-IgM** foi comparado com duas técnicas comercialmente disponíveis usadas rotineiramente no laboratório: uma técnica de ELISA (Orgentec®, França) e uma de ImunoEletroforese (IEP; Sebia®, França).

Os dados de cada paciente foram estudados e classificados de acordo com o consenso diagnóstico. As seguintes categorias de doenças foram usadas: Colonização por *Aspergillus*, Aspergilose Broncopulmonar alérgica (ABPA), Aspergilose Pulmonar Crônica (CPA) e todas as outras doenças comprovadas por *Aspergillus* agrupadas (aspergilose aguda ou subaguda, aspergilose não pulmonar). Os pacientes que não corresponderam a nenhuma classificação foram classificados como controlos.

Foi calculada a sensibilidade e a especificidade de cada teste, com os seus respetivos Intervalos de Confiança de 95% (IC95) (método de Wilson).

Resultados

Foram reunidas 263 amostras durante o estudo: 44 casos e 219 controles.

Os 44 casos foram classificados como: 6 ABPA, 23 colonização, 11 CPA, 4 outros (aspergilose aguda e subaguda).

Tabela 1 : Sensibilidade

N = 44	ELISA	IEP	LDBIO ICT
Positivo	20	35	40
Negativo	15	9	4
Ambíguo	9	0	0
Se [IC95]	57.1% [41-72%]	79.5% [66-89%]	90.9% [79-96%]

Tabela 2 : Especificidade

N = 219	ELISA	IEP	LDBIO ICT
Positivo	20	25	8
Negativo	10	194	211
Ambíguo	189	0	0
Sp [IC95]	92.6% [86-94%]	88.6% [84-92%]	96.3% [86-94%]

Tabelas 1 e 2: Resultados da avaliação de todas as técnicas em todos os soros (n=263). Para Elisa, os resultados ambíguos foram excluídos dos cálculos de sensibilidade/especificidade.

Conclusão

A correlação entre o estado clínico e LDBIO ICT foi muito boa:

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

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

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade entre séries e entre lotes foi testada. Em ambos os casos, a correlação soro a soro é excelente.

Interferências

Embora não tenha sido observada nenhuma reação cruzada particular com soros hemolisados ou lipídicos, é recomendada uma interpretação cuidadosa com o uso deste tipo de amostra.

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.

NOTIFICAÇÃO DE ATUALIZAÇÃO – Leia cuidadosamente

DATA DE EMISSÃO	VERSÃO	RESUMO DE ALTERAÇÕES
15/10/2021	Vs 06	Biblio - Adição EUH 032
20/11/2022	Vs07	Novo endereço
30/05/2023	Vs08	Atualização de Toxicidade
02/10/2024	Vs09	cor do nome do produto e do número de peça



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