

PEO

CE



ICT IgG-IgM

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

#MPEO Ab ICT20: 20 testes
#MPEO 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

PEO ICT IgG-IgM é um teste rápido imunocromatográfico de diagnóstico sorológico proposto como teste de rastreio para a doença pulmonar de criador de aves (BBD), alveolite alérgica extrínseca (EAA) com antígenos de aves.

PRINCÍPIO DO TESTE

PEO ICT IgG-IgM é um teste unitário de uso único para um diagnóstico qualitativo. É baseado no princípio de *sandwich* homogénea (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 (leite de pombo) 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 de leite de pombo (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 !

Código	Perigo
H317	Pode provocar uma reacção alérgica cutânea.
Code	Prevenção
P261	Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/ vapores/aerossóis.
P272	A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho
P280	Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/ protecção ocular/protecção facial.
	Resposta
P305+P351+P338 P337+P313	SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Remover as lentes de contato, se presentes e fáceis de retirar. Continue enxaguando. Se a irritação ocular persistir: consulte um médico.
	Eliminação
P501	Descarte o conteúdo / recipiente de acordo com a regulamentação local

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

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 com soro.
- A recolha da amostra deve ser estéril.
- 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 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 tênue. Para linhas muito tênues, 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 específicos na amostra.

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.

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 da doença do criador de aves 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

A avaliação incluiu dois grupos complementares de pacientes:

- Um grupo prospetivo de 185 soros caracterizados por uma técnica de rastreio automatizada num laboratório de biologia especializado e cujos resultados positivos foram enviados para confirmação num laboratório de referência para diagnóstico de doença pulmonar de criador de aves (16 BBD, 5 sensibilizados, 164 negativos).
- Um grupo complementar de 63 soros caracterizados do mesmo laboratório de referência (38 BBD, 10 sensibilizados, 15 negativos).

O objetivo da avaliação foi determinar o desempenho do PEO ICT IgG-IgM, em particular para detetar pacientes BBD e pacientes sensibilizados, e a especificidade do teste. Os intervalos de confiança são calculados de acordo com o método de Wilson com correção para continuidade.

<i>Pacientes</i>	PEO ICT IgG-IgM N=248	
	Positivo	Negativo
<i>BBD</i> <i>N=54</i>	48	6
<i>Sensibilizados</i> <i>N=15</i>	6	9
<i>Negativo</i> <i>N=179</i>	26	153

LDBIO PEO ICT IgG-IgM foi positivo em 54/69 amostras, 48/54 das quais eram BBD, enquanto foi negativo em 153/179 das amostras negativas. A sua sensibilidade é, portanto, de 78,3% (IC95 [66,4-86,9%]) para todos os positivos e de 88,9% (IC95 [76,7-95,4%]) para pacientes com BBD. A especificidade é de 85,5% (IC95 [79,2-90,1%]).

Esses desempenhos permitem que o LDBIO ICT IgG IgM seja usado como um teste de rastreio para a doença de criadores de aves EAA. No entanto, não pode diferenciar entre pacientes sensibilizados e BBD e, deve portanto, ser confirmado por um teste confirmatório, como o teste PEO WB IgG.

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

- Goudswaard J, Noordzij A, Stam JW. Pigeon IgA: a major antigen in pigeon breeder's disease. *Immunol Commun.* 1978;7(6):661–8.
- McSharry C, Anderson K, Boyd G. A review of antigen diversity causing lung disease among pigeon breeders. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* 2000 Sep;30(9):1221–9.
- Chan AL, Juarez MM, Leslie KO, Ismail HA, Albertson TE. Bird fancier's lung: a state-of-the-art review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2012 Aug;43(1-2):69–83.
- Nademi Z, Todryk S, Baldwin C. Characteristics of antibody responses in Pigeon Fanciers' Lung. *Mol Immunol.* 2013 Jun;54(2):227–32.
- Ohtani Y, Hisauchi K, Sumi Y, Miyashita Y, Sawada M, Miyake S, et al. Sequential changes in bronchoalveolar lavage cells and cytokines in a patient progressing from acute to chronic bird Fancier's lung disease. *Intern Med Tokyo Jpn.* 1999 Nov;38(11):896–9.
- Toubas D, Aubert D, Villena I, Foudrinier F, Chemla C, Pinon JM. Use of co-immunoelectrodiffusion to detect presumed disease-associated precipitating antibodies, and time-course value of specific isotypes in bird-breeder's disease. *J Immunol Methods.* 2003 Jan 15;272(1-2):135–45.
- Lacasse Y, Girard M, Cormier Y. Recent advances in hypersensitivity pneumonitis. *Chest.* 2012 Jul;142(1):208–17.

NOTIFICAÇÃO DE ATUALIZAÇÃO – Leia cuidadosamente

DATA DE EMISSÃO	VERSÃO	RESUMO DE ALTERAÇÕES
13/05/2022	Vs 01	Concepção
30/11/2022	Vs 02	Nova Morada
23/07/2024	Vs 03	Erratum : BBD versus AAE – uso exclusivo de soro



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