

SCHISTOSOMA

CE



ICT IgG-IgM

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

#BILZ Ab ICT20: 20 testes

#BILZ 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

SCHISTOSOMA 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-*Schistosoma* em soro humano.

PRINCÍPIO DO TESTE

SCHISTOSOMA 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 antigénios (*Schistosoma mansoni* adulto) 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 vermelho** conjugadas com antigénios *S. mansoni* (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 vermelha**: 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**	2 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 !

Code	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	
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 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 recolha da amostra deve ser estéril e pode ser efetuada num tubo seco ou com heparina (**não use plasma de amostras com 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 30µL; 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 30µL 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 **3 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 vermelha “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 vermelha. 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 vermelha não reflete a quantidade de anticorpos anti-*Schistosoma* 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.

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 2 ou 4 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 (Se)

A avaliação retrospectiva abrangeu 354 amostras.

166 amostras foram clinicamente documentadas (ovos, biopsia, achados clínicos...) de pacientes infetados por *S. haematobium* e *S. mansoni* (aproximadamente 1:1 rácio).

Natureza da amostra	ICT Positivo	ICT negativo	Se %
Esquistossomose clínica (n=166)	164	2	98.8

Tabela 1: Sensibilidade de *SCHISTOSOMA ICT IgG-IgM* em amostras de casos clínicos de esquistossomose. Os 2 resultados ICT negativos foram igualmente negativos no immunoblot *SCHISTO II WB Ig* de referência.

43 amostras foram obtidas da recente epidemia na Córsega (hibridização de *S. haematobium* por *S. bovis*). 145 amostras vieram de amostras de diagnóstico de rotina apresentando resultados positivos ou ambíguos num ou vários testes de triagem (HIA, IFA, ELISA).

Natureza da amostra	ICT Positivo	ICT Negativo	Se %
Epidemia Córsega: amostras positivas (n=43)	39	4	90.7
Esquistossomose serológica (n=145)	136	9	93.8
TOTAL (n=188)	175	13	93.1

Fig. 2: Sensibilidade de SCHISTOSOMA ICT IgG-IgM em amostras serológicas de esquistossomose. As 188 amostras foram confirmadas positivas no immunoblot SCHISTO II WB IgG de referência.

Sensibilidade de SCHISTOSOMA ICT IgG-IgM (n=354): Se = 95.8% [93.0 - 97.5%] (intervalo de confiança de acordo com o método de Wilson com correção de continuidade)

Especificidade (Esp)

A avaliação contemplou 275 amostras, incluindo 53 dadores de sangue, 181 soros de pacientes apresentaram as seguintes infeções parasitárias: *Echinococcus granulosus* (14), *E. multilocularis* (8), malária (26), filaríase (7), *Stongiloides stercoralis* (8), *Fasciola hepatica* (8), *Trichinella spiralis* (9), *Toxocara canis* (26), cisticercose (45), *Leishmania infantum* (30) e 41 soros de doentes apresentaram doenças autoimunes: fator reumatoide RF+ (20), anticorpos antinucleares ANA+ (21).

Natureza da amostra	ICT Negativo	ICT Positivo	Esp%
Dador de sangue (n=53)	53	0	100.0
Equinococose Cística (n=14)	11	3	72.7
Equinococose Alveolar (n=8)	8	0	100.0
Malária (n=26)	24	2	91.7
Filaríase (n=7)	7	0	100.0
Anguilulose (n=8)	7	1	85.7
Fasciolíase (n=8)	7	1	85.7
Triquinelose (n=9)	9	0	100.0
Toxocaríase (n=26)	26	0	100.0
Cisticercose (n=45)	35	10	71.4
Leishmaniose (n=30)	27	3	88.9
Fator reumatoide (n=20)	20	0	100.0
Anticorpos antinucleares (n=21)	20	1	95.0
TOTAL (n=275)	254	21	92.4

Tabela 3: Especificidade comparativa de SCHISTOSOMA ICT IgG-IgM em amostras de dadores de sangue, pacientes com infeções parasitárias ou doenças autoimunes. As 275 amostras foram consideradas negativas no Immunoblot SCHISTO II WB IgG de referência.

Duas infeções de helmintes, equinococose cística e cisticercose, podem originar reações cruzadas com SCHISTOSOMA ICT IgG-IgM: Isto realça o interesse em fazer a confirmação do diagnóstico serológico no immunoblot.

A especificidade do SCHISTOSOMA ICT IgG-IgM (n=275): Esp = 92.4% [88.4 - 95.1%] (intervalo de confiança de acordo com o método de Wilson com correção de continuidade).

Conclusão

A correlação entre resultados clínicos e serológicos e o ICT é muito boa.

Sensibilidade Se = 95.8% [93.0 - 97.5%]

Esp Especificidade = 92.4% [88.4 - 95.1%]

No entanto, como com qualquer resultado serológico, um resultado positivo não diferencia uma infeção ativa de uma infeção previamente tratada.

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. **Soros ictéricos:** ensaios de suplementação mostraram uma possível reação cruzada (falso positivo) para concentrações de bilirrubina superiores a 100 µmol/L.

BIBLIOGRAFIA

- Beltrame A, Guerriero M, Angheben A, Gobbi F, Requena-Mendez A, Zammarchi L, *et al.* 2017. « Accuracy of parasitological and immunological tests for the screening of human schistosomiasis in immigrants and refugees from African countries: An approach with Latent Class Analysis ». *PLoS Negl Trop Dis* 11(6): e0005593. doi:10.1371/journal.pntd.0005593.
- Bevilacqua N, Pane S, Vairo F, Nicastrì E, Paglia M, Ame S, Sañé Schepisi M, *et al.* 2012. « Accuracy of Indirect Haemagglutination and Western Blot Assays for the Detection of Anti-Schistosoma Antibodies in Non-Severe Febrile Patients in Two Tanzanian Hospitals ». *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 44 (6): 453–58. doi:10.3109/00365548.2011.645505.
- Brunet J, Pfaff A, Hansmann Y, Gregorowicz G, Pesson B, Abou-Bacar A, *et al.* Candolfi E. 2015. « An Unusual Case of Hematuria in a French Family Returning from Corsica ». *International Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases* 31 (février): 59–60. doi:10.1016/j.ijid.2014.10.024.
- Cavalcanti M, Silva L, Peralta R, Barreto M, *et al.* Peralta J. 2013. « Schistosomiasis in Areas of Low Endemicity: A New Era in Diagnosis ». *Trends in Parasitology* 29 (2): 75–82. doi:10.1016/j.pt.2012.11.003.
- Colley D, Bustinduy A, Secor E, *et al.* King CH. 2014. « Human Schistosomiasis ». *Lancet* 383 (9936): 2253–64. doi:10.1016/S0140-6736(13)61949-2.
- De Laval F, Savini H, Bianche-Valero E, *et al.* Simon F. 2014. « Human Schistosomiasis: An Emerging Threat for Europe ». *The Lancet* 384 (9948): 1094–95. doi:10.1016/S0140-6736(14)61669-X.
- ECDC Stockholm 2014: « Rapid risk assessment: Local transmission of *Schistosoma haematobium* in Corsica, France ». European Centre for Disease Prevention and Control.
<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/schistosoma-haematobium-risk-assessment-France-Germany.pdf>

Holtfreter MC, Moné H, Müller-Stöver I, Mouahid G, et Richter J. 2014. « Schistosoma Haematobium Infections Acquired in Corsica, France, August 2013 ». *Euro Surveillace: Bulletin Européen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin* 19 (22).

Moné H, Holtfreter MC, Allienne JF, Mintsá-Nguéma R, Ibikounlé M, Boissier J, Berry A, Mitta G, Richter J, et Mouahid G. 2015. « Introgressive Hybridizations of Schistosoma Haematobium by Schistosoma Bovis at the Origin of the First Case Report of Schistosomiasis in Corsica (France, Europe) ». *Parasitology Research*, août. doi:10.1007/s00436-015-4643-4.

Noormahomed EV, Nhacupe N, Mascaró-Lazcano C, Natane Mauaie M, Buene T, Abel Funzamo C, et Benson C. 2014. « A Cross-Sectional Serological Study of Cysticercosis, Schistosomiasis, Toxocariasis and Echinococcosis in HIV-1 Infected People in Beira, Mozambique ». Édité par Ana Flisser. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 8 (9): e3121. doi:10.1371/journal.pntd.0003121.

Sulahian A, Garin Y, Izri A, Verret C, Delaunay P, Van Gool P, et Derouin F. 2005. « Development and evaluation of a Western blot kit for diagnosis of schistosomiasis ». *Clinical and diagnostic laboratory immunology* 12 (4): 548-51. doi:10.1128/CDLI.12.4.548-551.2005.

NOTIFICAÇÃO DE ATUALIZAÇÃO – Leia cuidadosamente

DATA DE EMISSÃO	VERSÃO	RESUMO DE ALTERAÇÕES
16/04/2021	Vs 08	correção de um erro de volume de amostra
14/06/2021	Vs 09	Adicionar referência para 100 kits de testes - contactar endereço electrónico – Biblio – Soros ictericos - Toxicidade do tampão de eluição
30/11/2022	Vs10	Novo endereço



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