

ASPERGILLUS

CE



ICT IgG-IgM

Prueba inmunocromatográfica para uso diagnóstico *in vitro*
Técnica manual

#ASPG Ab ICT20: 20 pruebas

#ASPG Ab ICT100: 100 pruebas

INSTRUCCIONES DE USO

Encuentre más información e instrucciones de uso en su idioma en nuestra página web

www.ldbiodiagnostics.com

USO PREVISTO

ASPERGILLUS ICT IgG-IgM es una prueba rápida basada en la tecnología de la inmunocromatografía (flujo lateral) que sirve para *detectar simultáneamente* anticuerpos anti-*Aspergillus* de clase tanto IgG como IgM en sueros humanos.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

ASPERGILLUS ICT IgG-IgM es un test de diagnóstico cualitativa. Se basa en el principio del sándwich homogéneo (reacción inmunológica de dos epítomos de antígeno idénticos con los dos puntos de unión de un anticuerpo bivalente).

El dispositivo, que se encuentra dentro de un recipiente, se compone de los siguientes elementos:

- una tira de nitrocelulosa en la que se extienden dos bandas reactivas: los antígenos (purificados a partir de un cultivo de *Aspergillus fumigatus*) de la banda de "Test" (banda T) y las gammaglobulinas de conejo de la banda de "control" (banda C),
- un soporte de fibra de vidrio (almohadilla conjugada) impregnado de partículas de **látex negro** con antígenos de *Aspergillus fumigatus* (látex de "Test" = látex T) y partículas de **látex azul** con anticuerpos caprinos contra las inmunoglobulinas G de conejo (látex de "control" = látex C).

La prueba se efectúa mediante la dispensación sucesiva de la muestra de suero y de una solución eluyente en la "cavidad para la muestra" del dispositivo. Al añadir el eluyente, se inicia la migración simultánea (cromatografía) del suero y las partículas de látex. Esta migración dura entre 20 y 30 minutos.

Si en la muestra hay anticuerpos específicos (IgG o IgM), se forma un complejo entre el látex T y los anticuerpos del paciente, que recoge después la banda T. Si el resultado es la aparición de una **línea negra**, la prueba es positiva.

La recogida directa del látex C por la banda C da como resultado la aparición de una línea azul, lo que significa que la cromatografía se ha realizado correctamente. El aspecto de esta **línea azul** es sistemático e independiente de la condición serológica del paciente.

Las dos letras "T" y "C" están impresas en el dispositivo y sirven para indicar la posición de la zona de lectura correspondiente.

COMPONENTES DEL KIT

ID	Descripción	Embalaje	
		20 pruebas	100 pruebas
R1	Bolsa (precintadas y con cierre de cremallera) de 10 casetes listos para usar + un desecante	2	10
R2**	Frasco cuentagotas de 3 mL del eluyente	1	5
	Instrucciones de uso	1	1

** Eluyente R2

- **Pictogramas de peligro**
- **Palabra de advertencia:** Atención!



○ **Indicaciones de peligro :**

Code	Peligro
H302	Nocivo en caso de ingestión.
H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

○ **Consejos de prudencia:**

Code	Prevención
P261	Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.
P264	Lavarse manos concienzudamente tras la manipulación.
P270	No comer, beber ni fumar durante su utilización.
P272	Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.
P280	Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.
Respuesta	
P301+ P312+P330	EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico si se encuentra mal. Enjuagarse la boca.
P302+P352 P333+P313 P363	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.
Eliminación	
P501	Elimine el contenido y el recipiente de acuerdo con las regulaciones pertinentes.

○ **Peligros no clasificados de otra manera (HNOC)**

EUH 032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

EUH 210 Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad, o consultarla en nuestra página web

www.ldbiodiagnostics.com.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- **Guarde la bolsa precintada original a una temperatura de entre 2 y 8 °C.** Los dispositivos se pueden usar hasta la fecha de caducidad escrita en la etiqueta de la bolsa. No las congele. No las utilice después de la fecha de caducidad.
- **La primera apertura de una bolsa de 10 pruebas se deberá efectuar como mínimo 15 minutos después** de poner la bolsa a temperatura ambiente para evitar que se condense el interior de la bolsa.
- **Deje que el eluyente permanezca al menos 15 minutos a temperatura ambiente antes de usar.**
- **Después de abrir por primera vez una bolsa, manténgala a temperatura ambiente (entre 18 y 30 °C) y cerrada cuidadosamente** (cierre de cremallera), con el paquete de secante dentro. Después de su apertura, los recipientes se podrán utilizar **durante un periodo de hasta 2 meses.**
- El eluyente es estable durante un tiempo de hasta 2 meses a temperatura ambiente (entre 18 y 30 °C) y hasta la fecha de caducidad (como figura en el kit) si se mantiene entre 2 y 8 °C.

PRECAUCIONES DE USO

Seguridad

- Solo para diagnóstico *in vitro*. Manipule conforme a la buena práctica de laboratorio y trate cualquier reactivo y cualquier muestra como potencialmente tóxicos y/o infecciosos.
- Solo para uso profesional. Solo para personal capacitado técnicamente.
- Todas las muestras de suero se deben considerar como potencialmente infecciosas y manejarse con cuidado.
- Haga uso de una bata de laboratorio, guantes y gafas; no beba, coma ni fume en el laboratorio. No introduzca las pipetas en la boca.

- Deseche los residuos (muestras, puntas, tubos, recipientes, reactivo usado...) según las buenas prácticas utilizadas en el sector y las normas actuales del país.
- Cualquier incidente grave debe ser objeto de una declaración al fabricante y a la autoridad competente.

Precauciones

- Lea e interprete los resultados bajo luz blanca directa.
- No utilice eluyente de otro número de lote
- No utilice dispositivos de dos números de lote diferentes en el mismo ensayo.
- Cierre los frascos después de cada uso; no se deben utilizar si se introdujera accidentalmente una sustancia en los reactivos. No utilice el reactivo de un frasco que presente indicios de fuga. No utilice soluciones turbias o precipitadas.
- Utilice solo puntas de pipetas desechables. Evite cualquier contaminación entre recipientes.
- No utilice reactivos después de la fecha de caducidad.
- La omisión de una muestra o la dispensación de un volumen inadecuado pueden dar lugar a un resultado positivo o negativo de la prueba con independencia de la condición serológica real.
- Utilice solo dispositivos guardados cuidadosamente en su bolsa cerrada, con el paquete de secante dentro.

RECOGIDA Y PREPARACION DEL SUERO

- La prueba se puede efectuar bien con suero o bien con plasma.
- La recogida de muestras deberá ser estéril y se podrá hacer en tubo seco o con heparina, citrato o EDTA.
- En tubos con gel, no recoja gel porque podría producir falsos positivos.
- Evite la hemólisis en la medida de lo posible.
- Mantenga las muestras a una temperatura de entre 2 y 8 °C hasta su procesamiento. Si es necesario almacenarlas, congélelas a menos de -15 °C. No use una muestra contaminada. Evite la congelación y descongelación repetidamente de las muestras.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Material adicional requerido: micropipeta y puntas desechables para administrar volúmenes de 15 µL y cronómetro.

Si las bolsas de 10 pruebas se mantienen a una temperatura de entre 2 y 8 °C, déjelas al menos 15 minutos a temperatura ambiente antes de abrirlas, pues la temperatura de la bolsa deberá llegar a la temperatura ambiente para evitar la condensación del interior de la bolsa.

1. Saque el número de recipientes que desee y cierre cuidadosamente la bolsa con la cremallera (con el paquete de secante dentro) mientras saca a presión tanto aire como pueda. **Cierre la bolsa y guárdela a temperatura ambiente durante 2 meses.**
2. **Identifique cada recipiente** con la referencia de cada muestra objeto de la prueba. No trabaje con ensayos de más de 10 dispositivos. Si se van a realizar dos ensayos sucesivos de 10 dispositivos deberán transcurrir unos minutos entre uno y otro para poder realizar la lectura en los momentos oportunos. Se recomienda utilizar dos cronómetros.
3. Utilice una micropipeta con punta desechable para dispensar 15 µL de suero o plasma en la cavidad para la muestra. Proceda así para todos los dispositivos antes de pasar al siguiente paso.
4. Dispense **4 gotas** del eluyente del kit. **No utilice eluyente de otro número de lote.** Al realizar la dispensación, mantenga el cuentagotas en vertical. Cierre el cuentagotas después de su uso.
5. Inicie el cronómetro cuando haya dispensado el eluyente en todos los dispositivos del ensayo.

LECTURA E INTERPRETACION

La lectura se deberá efectuar junto a una ventana o debajo de luz directa (por ejemplo, una lámpara de escritorio). Evite las sombras en la zona de lectura.

La lectura se hará entre 20 y 30 minutos después de iniciar el cronómetro.

No tenga en cuenta los resultados de lecturas hechas después de 30 minutos.

- **Prueba positiva:** en las zonas correspondientes aparecen 2 líneas, una "T" **negra** y una "C" azul. Toda línea "T" se considerará positiva, aunque su intensidad sea muy débil. Para líneas muy débiles, haga la lectura con el ojo en vertical por encima del área de lectura.
- **Prueba negativa:** no aparece ninguna línea negra. Solo es visible la línea "C" azul.
- **Prueba ambigua:** en casos muy excepcionales, puede aparecer en la banda "T" una línea gris débil y difusa. Este resultado se considerará negativo, pero se analizará en otra muestra o con otra técnica.
- **Prueba no válida:** la línea "C" no aparece. Lea otra vez las instrucciones y repita la prueba. Si el problema persiste, contacte con el fabricante o con su distribuidor.

Notas: Esta es una prueba cualitativa. La intensidad de la línea negra no refleja la cantidad de anticuerpos específicos de la muestra.

El resultado positivo de la prueba demuestra el contacto del paciente con el agente infeccioso, pero no sirve para juzgar de antemano la fecha de contacto o la condición clínica del paciente.

CONTROL DE CALIDAD

- La línea azul "C" permite confirmar que la prueba se ha realizado correctamente.
- No obstante, se recomienda incorporar, de vez en cuando, una muestra débil que se sepa que es positiva a un ensayo.

Nota: Con algunos sueros, se puede ver una segunda banda negra y contigua a la banda azul (es decir, una duplicación de la banda "C"). La segunda banda no afecta al resultado de la prueba, que se deberá leer únicamente en la línea "T".

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- No utilice una muestra de suero muy antigua con esta técnica. Se recomienda utilizar muestras congeladas durante menos de 2 años. El resultado positivo puede estar provocado por la presencia de IgG o IgM dirigida contra el agente infeccioso, la prueba no distingue el tipo de anticuerpos presentes.
- El uso de otros líquidos corporales (orina, líquido cefalorraquídeo, saliva, sangre completa anticoagulada...) no ha sido validado.
- No se recomienda el uso de muestras hemolíticas, ictericas o lipídicas. No obstante, no se ha indicado que estas puedan provocar interferencias en la reacción. Aun así, las muestras muy hemolíticas pueden ocultar una prueba débilmente positiva, dado el intenso color de fondo rojo de la hemolisis.
- No dispense 3 o 5 gotas de eluyente.
- **No utilice un eluyente que no sea el suministrado con los recipientes (mismo número de partida).**
- El diagnóstico de una enfermedad infecciosa no se puede determinar según los resultados de una única prueba.
- Para establecer un diagnóstico, los resultados serológicos deben interpretarse de acuerdo con la información disponible (esto es, epidemiológica, clínica, las imágenes, la biología, etc.)

RENDIMIENTO

Sensibilidad, especificidad

Metodología

La evaluación del kit se hizo de forma prospectiva en el laboratorio de un hospital de referencia especializado en enfermedades relacionadas con el hongo *Aspergillus*. ASPERGILLUS ICT IgG-IgM se comparó con dos técnicas disponibles en el mercado y utilizadas de forma habitual en el laboratorio: la técnica de ensayo de

inmunoadsorción enzimática (ELISA, por sus siglas en inglés) (Orgentec®, Francia) y la inmunolectroforesis (IEF; Sebia®, Francia).

Se estudió cada historia clínica del paciente y se clasificó de conformidad con el consenso diagnóstico. Las categorías patológicas que se emplearon fueron: la colonización de *Aspergillus*, la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA), la aspergilosis pulmonar crónica (APC) y se agruparon todas las demás enfermedades provocadas de forma demostrada por el *Aspergillus* (aspergilosis aguda y subaguda o aspergilosis no pulmonar). Los pacientes que no respondían a ninguna clasificación se clasificaron como pacientes de control.

Se calculó la sensibilidad y la especificidad de cada prueba, con sus respectivos intervalos de confianza del 95 % (IC95) (método de Wilson).

Resultados

Se recogieron 263 muestras durante el estudio: 44 casos y 219 controles.

Los 44 casos se clasificaron del modo siguiente: 6 de ABPA, 23 de colonización, 11 de APC, 4 de otro tipo (aspergilosis aguda y subaguda).

Tabla 1 : Sensibilidad

N = 44	ELISA	IEP	LDBIO ICT
Positivas	20	35	40
Negativas	15	9	4
Ambiguos	9	0	0

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

Tabla 2 : Especificidad

N = 219	ELISA	IEP	LDBIO ICT
Positivas	20	25	8
Negativas	10	194	211
Ambiguos	189	0	0

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

Tablas 1 y 2 : Resultados de la evaluación para todas las técnicas en todos los sueros (n = 263). En lo que respecta a ELISA, los resultados ambiguos se excluyeron de los cálculos de sensibilidad o especificidad.

Conclusión

La correlación entre la condición clínica y la prueba inmunocromatográfica de LDBIO fue muy buena:

Sensibilidad (Se) = 90,9 % [IC95: 79-96 %]

Especificidad (Esp) = 96,3 % [IC95: 93-98 %]

Reproducibilidad

Se estudió la reproducibilidad entre series y entre lotes. En ambos casos, la correlación entre suero y suero es excelente.

Interferencias

Aunque no se ha observado ninguna reacción cruzada con sueros hemolizados, ictéricos o lipídicos, se recomienda interpretar los resultados de dichas muestras con cautela.

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.

Notificación de actualización: lea atentamente

FECHA DE LANZAMIENTO	VERSION	RESUMEN DE MODIFICACIONES
15/10/2021	Vs 06	Biblio – EUH 032
20/11/2022	Vs07	Nueva dirección - Corrección de traducción
30/05/2023	Vs08	Actualización de la toxicidad
02/10/2024	Vs09	color del nombre del producto y número de pieza



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