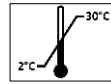


Para a deteção do antígeno *galactomannan* de *Aspergillus* em amostras de soro e lavados broncoalveolares (LBA)



PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

FAZER O TESTE

Obtenha 2 tubos de ensaio para cada amostra: 1 tubo com tampa de rosca, resistente ao calor da centrifugação para a diluição (tubo A) 1 tubo com base plana para execução do teste (tubo B)

1		Transferia 300 µL de amostra para o tubo A com tampa de rosca, resistente ao calor da centrifugação
2		Adicione 100 µL de tampão de tratamento prévio da amostra ao tubo A (Vortex)
3		Coloque o tubo A no bloco de aquecimento durante 6-8 min a 120 °C
4		Centrifugue o tubo A a 10 000 - 14 000 xg durante 5 minutos
5		Transferia 80 µL do tubo A para o tubo B
6		Adicione 40 µL de Tampão de Execução Aspergillus GM LFA ao tubo B
7		Insira a tira (↑ para baixo) e aguarde 30 min.
8		Leia o teste com o LFA Cube Reader

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O Teste de Fluxo Lateral sãna *Aspergillus* Galactomannan (AGM LFA, do inglês *Aspergillus* Galactomannan Lateral Flow Assay) é um sistema de teste não automatizado, imunocromatográfico para a deteção qualitativa do antígeno *galactomannan* de *Aspergillus* em amostras de soro e lavados broncoalveolares (LBA) de pacientes com suspeita de infeções de aspergilose.

O sãna AGM LFA é um teste que, quando usado em conjunto com outros procedimentos de diagnóstico, como cultura microbiológica, exame histológico de amostras de biópsia e evidências radiográficas, pode servir como auxiliar no diagnóstico de aspergilose. O teste destina-se à utilização com o sãna LFA Cube Reader da IMMY (N.º de REF: LFARDR).

Este teste destina-se a ser realizado apenas por profissionais de laboratório com a devida formação.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

As espécies de *Aspergillus* são fungos filamentosos encontrados em todo o mundo, que podem viver tanto em espaços interiores como exteriores. A aspergilose invasiva (AI) é a forma mais grave de aspergilose. A aspergilose é causada pela respiração de esporos fúngicos. A AI desenvolve-se com disseminação rápida da infeção por aspergilose a partir dos pulmões para o cérebro, coração, rins ou pele. A AI é uma das maiores ameaças para os beneficiários de células estaminais hematopoiéticas e transplantes de órgãos sólidos. Os indivíduos imunodeprimidos devido a doenças como a infeção por VIH/SIDA também correm um alto risco¹⁻³. Nas últimas duas décadas, houve um aumento significativo na incidência de AI devido ao uso generalizado de tratamentos para algumas destas condições, como a quimioterapia e os agentes imunossupressores^{4,5}. Foi já documentado que as infeções por *Aspergillus* são responsáveis por um total que pode ir até 41% das infeções em todos os pacientes transplantados e têm uma impressionante taxa de mortalidade que pode ir até 92% nesta população². A deteção precoce e o tratamento da infeção são fundamentais para reduzir a mortalidade associada a esta doença^{6,7}.

PRINCÍPIOS BIOLÓGICOS

O sãna AGM LFA é um sistema de teste imunocromatográfico não automatizado com complexo *sandwich* que deteta *galactomannan* de *Aspergillus* em amostras de soro e LBA. As amostras de soro e LBA requerem tratamento térmico anterior ao teste. Após o tratamento, as amostras são pipetadas para um recipiente limpo. O Tampão de Execução *Aspergillus* GM LFA (N.º de REF: AFLFRB) é adicionado, sendo procedido por uma Tira de Teste de Fluxo Lateral *Aspergillus* GM (N.º de REF: LFAF50). O teste é executado durante 30 minutos e os resultados devem ser lidos dentro de 10 minutos após a conclusão do teste. O teste destina-se à utilização com o sãna LFA Cube Reader da IMMY (N.º de REF: LFARDR). O sãna LFA Cube Reader foi desenvolvido para minimizar os erros de interpretação humana, não permitindo a interpretação visual dos resultados pelo operador.

O sãna AGM LFA é desenvolvido com anticorpos específicos de *galactomannan* de *Aspergillus* conjugados com ouro coloidal, que se ligam a qualquer *galactomannan* que possa estar presente na amostra de espécimes, à medida que é absorvida pela tira de teste. Se ocorrer alguma ligação, o imunocomplexo migrará pela tira através de fluxo capilar, até ser capturado pelos anticorpos específicos de *galactomannan* de *Aspergillus* presentes na linha de teste. Isto resultará na formação de uma linha de teste visível. Além disso, estão presentes anticorpos de controlo conjugados com ouro, que se espalham juntamente com o espécime e são capturados pelos anticorpos de controlo presentes na linha de controlo, independentemente de os resultados do teste serem positivos ou negativos.

O sãna LFA Cube Reader da IMMY (N.º de REF: LFARDR) é um analisador de bancada portátil, alimentado a pilhas, usado para ler e interpretar os resultados do sãna AGM LFA. O Cube Reader recorre a um LED a 525 nm para ler os resultados no sãna AGM LFA. Os valores-índice $\geq 0,50$ são considerados positivos e serão apresentados como POS. Os valores-índice $< 0,50$ são considerados negativos e serão apresentados como NEG. Um valor-índice de 0,50 representa aproximadamente 0,50 ng/ml de *galactomannan* de *Aspergillus*. Os resultados inválidos serão apresentados como INV.

REAGENTES FORNECIDOS

Cada kit contém reagentes suficientes para 50 testes.

1	AFSPB1	Tampão de tratamento prévio de amostras solução de EDTA a 4%; contém 0,2% de ProClin	7 ml
---	--------	--	------

2	AFLFRB	Tampão de Execução <i>Aspergillus</i> GM Tampão de execução LFA; contém 0,2% de ProClin, 0,5% de Tergitol, 0,125% de SDS e 2,5% de ácido bórico	3 ml
3	LFAF50	Tiras de Teste de Fluxo Lateral <i>Aspergillus</i> GM 50 tiras LFA embaladas num exsiccador com tampa incluída	50 Ea
+	AFPC01	Controlo Positivo <i>Aspergillus</i> GM 50 – 70 ng/ml de <i>galactomannan</i> de <i>Aspergillus</i> em solução salina; contém 0,2% de ProClin, <0,2% de Tergitol e <2% de ácido bórico	3 ml

Consulte as Fichas de Dados de Segurança AF2003 para obter mais informações sobre os perigos e as advertências.

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- Luvas descartáveis
- Óculos de proteção
- Pipeta(s) capaz(es) de medir e fornecer 300, 100, 80 e 40 µL e pontas descartáveis associadas
- Tubos de microcentrifugação com tampa de rosca de 1,5-2,0 ml capazes de suportar aquecimento até 120 °C por bloco de aquecimento (N.º de REF: SCT050)
- Agitador vórtex
- Bloco de aquecimento capaz de atingir 120 °C
- Centrifugadora capaz de atingir, pelo menos, 10 000 xg
- Tubos descartáveis com fundo plano para microcentrifugação, tubos de ensaio ou uma placa de microtitulação
- Cronómetro
- Recipiente de resíduos de risco biológico

ESTABILIDADE E ARMAZENAMENTO DO REAGENTE

Todo o kit de teste sãna AGM LFA deve ser armazenado entre 2 e 30 °C até à data de validade impressa no rótulo do produto. Não é possível garantir a qualidade do produto após a data de validade.

As tiras de teste não utilizadas devem ser armazenadas no exsiccador com a tampa fechada com firmeza.

PRECAUÇÕES COM OS REAGENTES

1. Aquando de cada utilização, os componentes do kit devem ser inspecionados visualmente quanto a sinais óbvios de contaminação microbiana, derramamento ou danos físicos significativos na tira de teste. Elimine se se registarem estas condições.
2. A IMMY não garante o desempenho dos seus produtos quando usados com materiais adquiridos de outros fabricantes. Não misture reagentes de kits com números de lote diferentes ou de outros fabricantes.
3. O utilizador assume total responsabilidade por qualquer modificação nos procedimentos aqui publicados.
4. Não use o kit ou quaisquer reagentes do kit após a data de validade indicada.
5. O Tampão de Execução *Aspergillus* GM (N.º de REF: AFLFRB) e o Controlo Positivo *Aspergillus* GM (N.º de REF: AFPC01) são rotulados como:



H360	Pode afetar a fertilidade ou o nascituro.
H412	Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
P201	Pedir instruções específicas antes da utilização.
P202	Não manuseie o produto antes de ter lido e compreendido todas as precauções de segurança.
P280	Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P308 + P313	EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico.
P405	Armazenar em local fechado à chave.
P501	Eliminar o conteúdo/recipiente num ponto de recolha de resíduos perigosos ou especiais, em conformidade com os regulamentos locais, regionais, nacionais e/ou internacionais.

6. O Tampão de Tratamento Prévio de Amostras (N.º de REF: AFSPB1), o Tampão de Execução de *Aspergillus* GM (N.º de REF: AFLFRB) e o Controlo Positivo de *Aspergillus* GM (N.º de REF: AFPC01) estão rotulados conforme as indicações seguintes:



Advertência

H317	Pode provocar uma reação alérgica cutânea.
H412	Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
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 proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
P302 + P352	SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com água.
P333 + P313	Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.
P362 + P364	Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de voltar a usar.
P501	Eliminar o conteúdo/recipiente num ponto de recolha de resíduos perigosos ou especiais, em conformidade com os regulamentos locais, regionais, nacionais e/ou internacionais.

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES PARA UTILIZADORES

- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Este teste deve ser realizado apenas por utilizadores profissionais de laboratório com a devida formação.
- Use roupas de proteção, incluindo bata, proteção para os olhos/cara e luvas descartáveis, e manuseie os reagentes do kit e as amostras dos pacientes de acordo com as Boas Práticas de Laboratório aplicáveis. Lave devidamente as mãos após realizar o teste.
- Evite que as amostras ou soluções salpiquem.
- Os derramamentos biológicos devem ser completamente limpos com um desinfetante eficaz. Os desinfetantes que podem ser usados incluem (mas não estão limitados a) uma solução com 10% de lixívia, 70% de etanol ou 0,5% de Wescodyne Plus™. Os materiais usados para limpar derramamentos podem ter de ser eliminados como resíduos de risco biológico.
- Não é recomendado o uso deste kit com amostras que não sejam soro humano e fluido de LBA.
- AS AMOSTRAS DE SORO OU LBA CONGELADAS EM CONDIÇÕES DESCONHECIDAS PODEM ORIGINAR RESULTADOS FALSOS POSITIVOS DEVIDO À CONTAMINAÇÃO POR FUNGOS E/OU BACTÉRIAS.**
- Use materiais limpos e sem poeira (tubos, pontas, recipientes, etc.) para minimizar a possibilidade de contaminação com esporos de *Aspergillus* presentes no ambiente. Uma vez que o *galactomannan* é termostável, a esterilização do material utilizado não garante a ausência de antigénio contaminante. Os materiais ideais são os não pirogénicos, mas é possível utilizar os materiais padrão com as devidas precauções.
- Limite a exposição de amostras e componentes do kit (soros, fluido de LBA, tampão de tratamento prévio de amostras, tampão de execução, tiras de teste) ou recipientes abertos (placas, tubos, pontas de pipeta) ao ar.
- A temperatura do bloco de aquecimento deve ser confirmada por um termómetro independente para avaliar a temperatura real do bloco de aquecimento.
- Trate previamente apenas o número de espécimes que cabem numa configuração equilibrada na centrifugadora. Evite atrasos no processamento durante o tratamento prévio; para uma reatividade ideal, os espécimes devem ser centrifugados imediatamente.
- Se a amostra tiver um volume inadequado para teste (80 µL) após o tratamento prévio, repita as etapas de tratamento prévio com uma nova amostra. O tratamento prévio incompleto pode levar a resultados errados.
- Elimine todos os espécimes e materiais usados na realização do teste como se contivessem um agente infeccioso. Os resíduos químicos e de risco biológico de laboratório devem ser manuseados e eliminados de acordo com todos os regulamentos locais, regionais e nacionais.
- As Tiras de Teste de Fluxo Lateral *Aspergillus* GM (N.º de REF: LFAF50) podem apresentar risco biológico após a execução de amostras. Manuseie e elimine adequadamente.
- As fichas de dados de segurança estão disponíveis mediante solicitação.
- Os resultados lidos após a intervalo de leitura de 10 minutos são inválidos.
- Uma vez que o ensaio é qualitativo, os valores-índice não podem ser comparados com outros ensaios de *galactomannan* de *Aspergillus*.
- Uma amostra com positividade muito baixa pode tornar-se negativa após armazenamento prolongado a -20 °C.
- Uma amostra negativa pode tornar-se positiva devido à contaminação com *galactomannan* de múltiplas manipulações do tubo, como abertura e fecho e/ou alíquotas de amostras.

COLHEITA DE ESPÉCIMES

Faça a colheita de forma asséptica, usando técnicas estabelecidas por pessoal qualificado. Ao manusear os espécimes dos pacientes, devem ser tomadas as medidas adequadas para evitar a exposição a agentes etiológicos potencialmente presentes. Não foi estabelecida a utilização de amostras que não sejam soro ou LBA. Para obter

melhores resultados, devem ser utilizadas amostras estéreis. Processe e teste as amostras à chegada. Se ocorrer um atraso no processamento da amostra, é permitido o armazenamento até 2 semanas a <-20 °C. No entanto, uma amostra com positividade muito baixa pode tornar-se negativa após o armazenamento. As amostras em trânsito entre laboratórios devem ser mantidas entre 2 e 8 °C. Os espécimes devem ficar à temperatura ambiente antes da realização do teste.

PREPARAÇÃO DOS ESPÉCIMES

TRATAMENTO PRÉVIO DO SORO E LBA

- Coloque 300 µL de soro fresco ou LBA num tubo com tampa de rosca, resistente ao calor, para microcentrifugação.
- Adicione 100 µL de tampão de tratamento prévio de amostras (N.º de REF: AFSPB1, **1**) ao mesmo tubo.
- Aperte bem a tampa e processe a amostra no agitador vórtex.
- Deixe o tubo num bloco de aquecimento durante 6-8 minutos a 120 °C.
NOTA: use um termómetro calibrado para determinar a temperatura do bloco de aquecimento. Não confie na apresentação da temperatura do bloco de aquecimento, porque poderá não ser exata.
- Centrifugue imediatamente a amostra durante 5 minutos entre 10 000-14 000 xg à temperatura ambiente.
- Após o tratamento prévio, a amostra tratada (sobrenadante com sedimento) pode ser armazenada entre 2 e 8 °C até 7 horas antes da realização do teste. Se a análise da amostra exigir um novo teste, deve proceder-se ao tratamento prévio de uma alíquota separada da amostra para o novo teste.

PROCEDIMENTO

- Adicione 120 µL de Controlo Positivo *Aspergillus* GM (N.º de REF: AFPC01, **1**) a um tubo limpo ou a uma placa de titulação e adicione 120 µL de Tampão de Execução *Aspergillus* GM LFA [tampão de execução - controlo negativo] (N.º de REF: AFLFRB, **2**) a outro tubo ou placa de titulação limpa. Recomenda-se a testagem dos controlos 1 vez por execução.
NOTA: Não ferva os controlos positivos e/ou negativos.
- Pipete 40 µL de Tampão de Execução *Aspergillus* GM LFA (N.º de REF: AFLFRB, **2**) para um tubo ou placa de titulação limpa separada.
- Pipete 80 µL de sobrenadante do soro/LBA tratado previamente para cada tubo ou placa de titulação da etapa 2.
- Coloque uma Tira de Teste de Fluxo Lateral *Aspergillus* GM (N.º de REF: LFAF50, **3**) em cada tubo ou placa de titulação contendo uma amostra ou um controlo.
- Deixe o teste a executar durante 30 minutos à temperatura ambiente.
- Leia e registre os resultados dentro de 10 minutos após a conclusão do teste com o sôna LFA Cube Reader (consulte "LER O PROCEDIMENTO DE TESTE" abaixo).

PROCEDIMENTO DE CONTROLO DE QUALIDADE

Os controlos positivo e negativo verificam se o kit está a funcionar conforme esperado e garantem que o produto não tem falhas nem foi contaminado. Um controlo positivo (Controlo Positivo *Aspergillus* GM **1**) pode ser avaliado adicionando 120 µL a um tubo. Um controlo negativo (Tampão de Execução *Aspergillus* GM LFA **2**) pode ser avaliado adicionando 120 µL a um tubo diferente. Insira uma tira de teste (Tira de Teste de Fluxo Lateral *Aspergillus* GM **3**) nos tubos e leia após 30 minutos.

O controlo positivo deve produzir um valor-índice $\geq 0,50$ e o controlo negativo deve produzir um valor-índice $< 0,50$. Os resultados inválidos serão apresentados como INV. Se os controlos produzirem resultados diferentes deste, contacte o serviço de apoio ao cliente da IMMY.

Recomenda-se a realização do Controlo de Qualidade 1 vez por execução. Os controlos adicionais podem ser testados de acordo com as diretrizes ou os requisitos de regulamentações locais, estatais e/ou federais ou de organizações licenciadas.

LEITURA DO PROCEDIMENTO DE TESTE

Os resultados lidos após o tempo de leitura de 10 minutos são inválidos.

Os resultados $\geq 0,50$ são considerados positivos e serão apresentados como POS. Os resultados $< 0,50$ são considerados negativos e serão exibidos como NEG. Os resultados inválidos serão apresentados como INV.

- Execute o sôna AGM LFA de acordo com o procedimento acima.
- Pressione o botão na parte superior do sôna LFA Cube Reader (N.º de REF: LFARDR) duas vezes até que o visor mostre "RFID".
- Leia o identificador RFID específico do lote, localizado na parte inferior do tubo de Tiras de Teste de Fluxo Lateral *Aspergillus* GM (N.º de REF: LFAF50), colocando-o sobre o visor no leitor cúbico. Um sinal sonoro confirmará a leitura do identificador RFID e "TEST" surgirá no visor.
- Inspecione visualmente a tira de teste e verifique se não existem artefactos a interferir, como grandes pedaços de terra ou cotão na estrutura de leitura entre o teste e a linha de controlo.
- Quando a tira de teste estiver pronta para ser analisada, insira corretamente a Tira de Teste de Fluxo Lateral *Aspergillus* GM (N.º de REF: LFAF50, **3**) no leitor cúbico de forma a que as setas de amostra da tira estejam voltadas para a mesma direção que as setas de amostra no próprio adaptador. Os resultados devem ser lidos dentro de 10 minutos após a conclusão da incubação de 30 minutos do teste.
- Assim que "TEST" for apresentado no leitor cúbico, pressione o botão uma vez para executar o teste. "RUN" aparecerá no visor durante a leitura da tira.
- Os resultados serão apresentados como um valor numérico para a linha de teste, procedido por "POS" ou "NEG" e por um valor numérico para a linha de controlo. Registe os resultados do teste apresentados.
- Para testar outra tira do mesmo lote, retire a tira e pressione o botão no leitor cúbico três vezes até que "TEST" apareça no visor, e repita os passos 4-6.

RESULTADOS

Resultado	Visor	Valor do índice
Positivo	POS	$\geq 0,50$
Negativo	NEG	$< 0,50$

Inválido	INV	N/A
----------	-----	-----

Para ter um teste válido, a linha de controlo deve estar presente. Se a linha de controlo não estiver presente ou for muito fraca, surgirá no leitor cúbico "INV" e o teste será considerado inválido. A falta de uma linha de controlo ou uma linha de controlo fraca pode ser indicativa de um tratamento prévio incompleto da amostra.

Os resultados $\geq 0,50$ são considerados positivos e serão apresentados como POS. Os resultados $< 0,50$ são considerados negativos e serão exibidos como NEG.

Os resultados negativos não excluem o diagnóstico da doença. O espécime pode ter sido recolhido antes de o antígeno detetável estar presente.

As linhas de teste parciais que apenas aparecem numa metade da tira de teste devem ser consideradas inválidas, e o teste deve ser repetido para confirmar os resultados positivos ou negativos.

LIMPEZA DO LEITOR CÚBICO

1. Remova o sôna LFA Cube Reader do adaptador pressionando a aba do adaptador suavemente para baixo e levantando o leitor cúbico para fora do adaptador.
2. Limpe o adaptador do LFA Cube Reader com um desinfetante. Consulte Cuidados.
3. Limpe a lente do leitor cúbico com um pano sem fibras.
4. Coloque novamente o leitor cúbico no adaptador, fazendo corresponder o canto de ângulo reto do leitor cúbico com o canto de ângulo reto do adaptador do leitor cúbico. Pressione ligeiramente para baixo a aba do adaptador e insira o leitor cúbico, começando pela traseira. Pressione o leitor cúbico firmemente e solte a aba do adaptador. O leitor cúbico deve estar firmemente encaixado no adaptador antes de ser utilizado.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. As características de desempenho do teste não foram estabelecidas para outras matrizes além de soro e fluido LBA.
2. A testagem de amostras de soro hemolisado pode levar a falsos negativos e falsos positivos devido à intensa cor de fundo na tira.
3. A reatividade cruzada de amostras de fluido de LBA com *Mycoplasma pneumoniae* ou medicamentos/lubrificantes anestésicos usados para anestesiá-la a área do pescoço/garganta para o processo de aspiração não foi avaliada.
4. A reatividade cruzada foi observada graças a alguns espécimes de histoplasmose, candidíase e coccidioidomicose.
5. Os testes positivos devem ser confirmados nas áreas ou nos grupos de pacientes onde os organismos conhecidos por apresentarem reatividade cruzada com *Aspergillus spp.* são endêmicos ou estão em risco. A histoplasmose deve ser considerada nas áreas endêmicas, incluindo partes dos Estados Unidos.
6. O sôna AGM LFA poderá apresentar uma detecção reduzida de *galactomannan* em pacientes com doença granulomatosa crónica (DGC) e síndrome de Job^{8,9}.
7. O sôna AGM LFA não se destina à terapia de monitorização.
8. O uso da terapia antifúngica ativa contra o mofo em alguns pacientes com AI pode resultar em sensibilidade reduzida com o sôna AGM LFA.
9. O sôna AGM LFA não foi avaliado em pacientes neonatais.
10. O teste não deve ser realizado como procedimento de triagem para a população em geral. O valor preditivo de um resultado serológico positivo ou negativo depende da probabilidade de presença de aspergilose em testagem prévia. O teste só deve ser feito quando a evidência clínica sugere o diagnóstico de aspergilose.
11. Deve ser mantido um contacto adequado entre o tubo com tampa de rosca e o bloco de aquecimento durante a fervura que ocorre na etapa de tratamento prévio. Para obter assistência e mais informações, contacte o serviço de apoio técnico da IMMY.
12. As linhas de teste parciais que apenas aparecem numa metade da tira de teste devem ser consideradas inválidas, e o teste deve ser repetido para confirmar os resultados positivos ou negativos.

VALORES ESPERADOS

A frequência da aspergilose depende de vários fatores, incluindo a população de doentes, o tipo de instituição e a epidemiologia. A prevalência esperada de aspergilose invasiva varia de 5 a 20%¹⁰.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPENHO

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

O sôna AGM LFA foi comparado com os critérios clínicos EORTC/MSG para demonstrar sensibilidade (comprovada e provável) e especificidade (negativa). Esses estudos continham espécimes analisados com modelos prospetivos que foram submetidos a imunoenaios enzimáticos (IEE) de antígeno de *Aspergillus*. As tabelas de resumo dos dados recolhidos estão incluídas abaixo.

	Sens. do soro	Espec. do soro	Sens. do fluido de LBA	Espec. do fluido de LBA
Ponto estimado	100%	94%*	100%	46%**
IC 95%	29-100%	87-98%	3-100%	28-66%

*Um IEE para detecção do antígeno de *Aspergillus* teve uma especificidade de 93% usando o mesmo conjunto de dados

**Um IEE para detecção de antígeno de *Aspergillus* teve uma especificidade de 39% usando o mesmo conjunto de dados

SENSIBILIDADE ANALÍTICA

O sôna AGM LFA foi avaliado quanto à sensibilidade analítica, através da adição de soro em 7 concentrações diferentes e da adição de LBA em 5 concentrações de diferença com antígeno de *galactomannan* de *Aspergillus*. Cada uma das concentrações em soro

N.º do documento: PIS-00226

e LBA foi testada para um total de 20 réplicas. O limite de detecção (LD) foi determinado pela descoberta da interceção onde 95% dos resultados foram positivos, com aproximadamente 0,75 ng/mL para soro e 0,70 ng/mL para LBA.

REATIVIDADE CRUZADA

O sôna AGM LFA foi avaliado quanto à reatividade cruzada em contraste com um painel de soros de doentes num espectro de patologias diferentes. Os resultados deste teste são mostrados nas tabelas abaixo.

NOTA: os resultados do IEE de *galactomannan* são desconhecidos. Os espécimes podem revelar-se positivos com o IEE.

Patologia	N.º de Amostras	% Positiva
FAN Positivo	1	0% (0/1)
Sífilis	3	0% (0/3)
Rubéola	2	0% (0/2)
Micoplasma	2	0% (0/2)
Toxoplasmose	3	0% (0/3)
Infeção por CMV	3	0% (0/3)
Fator reumatoide	3	0% (0/3)
Vírus da hepatite C	2	0% (0/2)
Cancro	5	20% (1/5)
Transplante de órgão sólido	5	0% (0/5)

Além disso, a reatividade cruzada foi avaliada através da testagem de infecções de outros patógenos fúngicos com recurso ao sôna AGM LFA. A reatividade cruzada foi observada graças a alguns espécimes de histoplasmose, candidíase e coccidioidomicose.

Patologia	N.º de Amostras	% Positiva
Blastomicose	4	0% (0/4)
Candidíase	5	20% (1/5)
Serologia para Coccidioides	5	20% (1/5)
Histoplasmose	6	33% (2/6)
Criptococose	6	0% (0/6)
Mucormicose	1	0% (0/1)

Foram testadas amostras caracterizadas das seguintes infeções, e não apresentaram reatividade cruzada: blastomicose e criptococose.

INTERFERÊNCIA

O sôna AGM LFA foi avaliado quanto à interferência através da testagem de soros, com e sem o antígeno *galactomannan* de *Aspergillus* adicionado, de pacientes ictericos, hemolisados e lipémicos. Todos os soros sem o antígeno adicionado deram resultado negativo, enquanto todos os soros com antígeno adicionado deram resultado positivo, não tendo sido, desta forma, observada interferência. Os soros de pacientes hemolisados produziram alta reatividade de fundo da tira de teste de fluxo lateral, o que pode levar a resultados falsos negativos e falsos positivos.

REPRODUTIBILIDADE E PRECISÃO

O sôna AGM LFA foi avaliado quanto à reprodutibilidade e precisão do soro e LBA artificial (LBAa), através da adição do antígeno *galactomannan* de *Aspergillus*, para produzir 5 painéis compostos por amostras negativas, amostras pouco positivas e amostras moderadamente positivas. Recorreu-se a quatro operadores, de dois locais e sem conhecimento da identidade da amostra, para testar cada um dos cinco painéis todos os dias, ao longo de 5 dias. Os resultados deste estudo são mostrados nas tabelas abaixo.

	% Pos.	Média	% CV
Soro negativo	1%	0,12*	N/A**
Soro positivo baixo	100%	1,18	27%
LBA mod.	100%	2,77	20%
LBA negativo	0%	0,07*	N/A**
LBA positivo baixo	99%	1,09	29%
LBA positivo mod.	100%	2,49	19%

* O t-index médio do soro negativo e do LBA negativo foi calculado com base apenas em 53 e 17 resultados (respetivamente), pois existiam 37 e 73 $< 0,000$ resultados para o soro e o LBA, respetivamente.

** A % CV não foi calculada para os negativos, uma vez que 37 amostras de soro e 73 amostras de LBA obtiveram o resultado de $< 0,000$.

EFEITO DE GANCHO DE ALTA DOSE (EFEITO PROZONA)

O sôna AGM LFA foi avaliado quanto ao efeito de gancho de alta dose através da adição do antígeno *galactomannan* de *Aspergillus* em soro e LBA artificial (LBAa) para produzir 5 amostras de alta concentração. Cada concentração foi diluída em série e os resultados foram lidos usando o sôna LFA Cube Reader. Embora raras, as concentrações extremamente altas ($> 0,225$ mg/mL) de antígeno *galactomannan* de *Aspergillus* podem resultar na redução dos valores-índice de teste e de linha de controlo.

INTERVALO DE MEDIÇÃO

O intervalo de medição do teste sôna AGM LFA situa-se entre o LD e o efeito de gancho de alta dose. Para o soro, o intervalo de medição é de 0,75 ng/mL a 225 mg/mL; para os LBA, a faixa de medição é de 0,70 ng/mL a 225 mg/mL.













PROCEDIMENTOS E MATERIAIS DE REFERÊNCIA

Não há procedimentos ou materiais de medição de referência disponíveis para o utilizador.

BIBLIOGRAFIA

1. Barnes PD, Marr KA. Aspergillosis: spectrum of disease, diagnosis, and treatment. *Infect Dis Clin North Am.* 2006;20(3):545-61.
2. Singh N, and Paterson DL. Aspergillus infections in transplant recipients. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(1):44-69.
3. Soubani AO, Qureshi MA. Invasive pulmonary aspergillosis following bone marrow transplantation: risk factors and diagnostic aspect. *Haematologia (Budap).* 2002;32(4):427-37.
4. Chamilos G, Luna M, Lewis RE, Bodey GP, Chemaly R, Tarrand JJ, et al. Invasive fungal infections in patients with hematologic malignancies in a tertiary care cancer center: an autopsy study over a 15-year period (1989-2003). *Haematologica.* 2006;91(7):986-9.
5. McNeil MM, Nash SL, Hajjeh RA, Phelan MA, Conn LA, Plikaytis BD, et al. Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980-1997. *Clin Infect Dis.* 2001;33(5):641-7.
6. Mercier T, Dunbar A, de Kort E, Schauwvlieghe A, Reynders M, Guldentops E, et al. Lateral flow assays for diagnosing invasive pulmonary aspergillosis in adult hematology patients: A comparative multicenter study. *Med Myc.* 2019;1-9.
7. van der Peppel RJ, Visser LG, Dekkers OM, de Boer MGJ. The burden of Invasive Aspergillosis in patients with haematological malignancy: A meta-analysis and systematic review. *Journal of Infect.* 2018;76(6):550-562.
8. Walsh T. J., R.L. Schaefele, T. Sein, J. Gea-Banacloche, et al. Reduced expression of galactomannan antigenemia in patients with Invasive Aspergillosis and chronic granulomatous disease or Job's syndrome. Apresentação: 40.º Encontro Anual da Sociedade Americana de Doenças Infecciosas; outubro de 2002; Arlington, VA. P. 105; Abstr. 345.
9. King J, Henriet SSV, Warris A. Aspergillosis in Chronic Granulomatous Disease. *J Fungi (Basel).* 2016;2(2):15.
10. Denning DW. Invasive Aspergillosis. *Clin Infect Dis.* 1998; 26:781-803

UTILIZAÇÃO DE SÍMBOLOS INTERNACIONAIS

	Armazenamento: 2-30 °C		Número de lote
	Fabricante		N.º de catálogo
	Data de validade		Reagente para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Proteger da humidade		Suficiente para <n> testes
	Consultar as instruções de utilização		Utilizar apenas segundo o recomendado
	Apenas para utilização única		Em conformidade com os requisitos do RDIV da União Europeia

AVISO PARA UTILIZADORES DA UNIÃO EUROPEIA

Qualquer incidente grave que tenha ocorrido relativamente a este dispositivo deve ser comunicado à IMMY e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente se encontram.

O Resumo de Segurança e Desempenho (RSD) estará disponível no Banco de Dados Europeu sobre Dispositivos Médicos (EUDAMED), assim que o EUDAMED estiver disponível. O RSD está associado ao UDI-DI básico deste produto, que é 081638702AF2003RB.

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Data de Rev. 07-10-2024

Rev. 10

Para obter uma lista de alterações feitas às instruções de utilização, envie um e-mail para info@immy.com

Para localizar as instruções de utilização específicas de um país, consulte IMMY.com/asp



IMMY, Inc.

2701 Corporate Centre Dr
Norman, OK 73069 EUA
+1 (405) 360-4669 / (800) 654-3639
Fax: +1 (405) 364-1058
Email: info@immy.com
www.immy.com



2797



MDSS
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany