

# ELI.H.A Aspergillus

## Teste serológico de aspergilose por hemaglutinação indireta

102 Testes  
(RÉf. 44602)

8000110-PT-2025-07

Apenas para diagnóstico *in vitro*, apenas para uso profissional.  
Os testes são apenas para uso único.



### 1 - OBJETIVO

ELI.H.A Aspergillus permite a determinação quantitativa de anticorpos séricos contra *Aspergillus fumigatus* por hemaglutinação indireta.

Cada kit permite realizar 102 testes ou 17 reações com 6 diluições.

### 2 - INTRODUÇÃO

*Aspergillus fumigatus* é a espécie mais associada a patologias humanas.

*A. fumigatus* tem uma capacidade especial de adaptação parasitária aos seres humanos.

No entanto, são necessárias certas condições favoráveis para o seu desenvolvimento:

- condições locais (cavidades pré-formadas, abscessos pulmonares degenerados, membranas mucosas danificadas...);
- condições gerais (imunossupressão após grandes procedimentos cirúrgicos ou médicos: transplante de órgãos, terapia imunossupressora, esteroides, antibióticos...).

### 3 - PRINCIPIO DO TESTE

ELI.H.A Aspergillus baseia-se no princípio da hemaglutinação indireta. Os glóbulos vermelhos sensibilizados consistem em glóbulos vermelhos de ovelha revestidos com antígeno de *Aspergillus fumigatus*.

A presença de anticorpos séricos específicos leva à aglutinação de eritrócitos sensibilizados, resultando numa camada castanha-avermelhada turva na deposição. Na ausência de anticorpos específicos, os glóbulos vermelhos formam um depósito anular na parte inferior da deposição.

Os eritrócitos não sensibilizados garantem a especificidade da reação, portanto, qualquer distúrbio causado por aglutininas naturais anti-ovelha (heteroanticorpos de Forssman, anticorpos infeciosos contra a mononucleose...) pode ser descartado.

A reação é realizada numa placa de microtitulação em forma de U.

O manuseamento é simples e rápido, com resultados em 2 horas.

### 4 - REAGENTES E MATERIAIS

Descrição	Quantidade
R1: Tubo com 2,2 mL de glóbulos vermelhos sensibilizados	1
R2: Tubo contendo 1 mL de hemácias não sensibilizadas	1
BUF: frasco com 55 mL de solução tampão fosfato, pH 7,2	1
R3: Tubo com 2 mL de adsorvente	1
CONTROL +: Tubo com 0,2 mL de controlo positivo titulado	1
CONTROL -: Tubo com 0,2 mL de controlo negativo	1
MICROPLATE: Placas de microtitulação (em forma de U)	2
DROPPER: Conta-gotas específico	2

### 5 - AVISOS E PRECAUÇÕES

- Apenas para diagnóstico *in vitro* e apenas para ser usado por pessoal de laboratório qualificado.
- Cada teste é para utilização unitária.
- Todos os reagentes, exceto o reagente BUF, contêm matérias-primas de origem animal e devem ser manuseados com cuidado.
- As amostras de pacientes são potencialmente infeciosas. Devem ser manuseadas com cautela, respeitando as normas e regulamentos de higiene vigentes para este tipo de produto no país de uso.
- Os reagentes contêm azida de sódio (concentração < 0,1%). A azida de sódio contida nos reagentes pode reagir com os metais pesados nos canos e formar compostos explosivos. Assim, recomenda-se não deitar os reagentes para o lavatório e seguir as recomendações e normas vigentes para a deposição de resíduos.
- Não utilizar após o prazo de validade.
- Não use reagentes de lotes diferentes.
- Os reagentes devem ter atingido a temperatura ambiente antes do seu uso.
- Agite suavemente os reagentes R1 e R2 antes de usar.
- Quando os reagentes R1 e R2 são dispensados, certifique-se de que o conta-gotas está na vertical. Certifique-se de que as gotas estão livres de bolhas de ar, pois só assim é garantido volume constante.

### 6 - AMOSTRAGEM E MANUSEAMENTO DE AMOSTRAS

Use soro fresco ou soro armazenado a -20°C que não mostre sinais de hemólise, turbidez ou contaminação.

O congelamento e o descongelamento repetidos devem ser evitados.

Não realize nenhum tratamento de pré-aquecimento (decomposição) do soro.

### 7 - ESTABILIDADE, ARMAZENAMENTO E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

Os reagentes estão prontos para usar.

Todos os reagentes, armazenados na embalagem original a 2-8°C, serão mantidos estáveis até o prazo de validade indicado na embalagem. Não congelar.

### 8 - MATERIAIS NECESSÁRIOS (não incluídos no kit)

- Pipeta(s) automática (s) com volume de pipetagem adaptado ao volume a ser medido;
- Recipientes para resíduos contaminados;
- Centrifuga;
- Tubos de hemólise.

### 9 - REALIZAÇÃO DO TESTE

Antes do início do teste, todos os reagentes e amostras devem ter atingido a temperatura ambiente.

#### 9.1 - Preparação da amostra

Realize uma diluição de 1:40 do soro a ser testado:

- 50 µL de soro;
- 1,95 mL do reagente BUF.

#### 9.2 - Realização do teste em micropplaça

- Pipete com uma micropipa multicanal em 8 poços da placa de microtitulação 50 µL BUF.

- Adicionar 50 µL de soro diluído com uma micropipa ao primeiro poço.  
Misture o soro com o BUF e faça uma série de diluições, transferindo 50 µL do primeiro poço para o segundo, depois 50 µL do segundo para o terceiro e assim por diante até ao sexto poço. Em seguida, remova 50 µL do sexto poço e descarte. Desta forma, nos poços são obtidas as diluições de 1:80 a 1:2560.

- Pipete 50 µL de soro diluído no sétimo poço. Misture o soro com BUF e descarte 50 µL. Esta diluição de 1:80 representa o controlo do soro e é usada para detetar aglutininas naturais anti-ovelha que podem estar presentes em algumas amostras de soro.

#### 9.3 - Adsorção de aglutininas naturais anti-ovelha em caso de aglutinação de soro controlo

- Agite cuidadosamente R1 e R2.
  - Adicione 1 gota de R1 em cada um dos 6 primeiros poços.
  - No sétimo poço, adicione 1 gota de R2 (controlo sérico).
  - Adicione 1 gota de R1 ao oitavo poço (controlo de reagente). Isso serve para o controlo de precisão dos reagentes BUF e R1.
- Nota: Apenas um controlo de reagente deve ser realizado por série de ensaios.
- Homogeneizar cuidadosamente o conteúdo dos poços:
  - manualmente, bater na lateral da micropplaça que foi colocada horizontalmente sobre a bancada.
  - ou, usando um agitador vibratório para placas de microtitulação (por exemplo, a 1300 rpm durante 10s). Não use agitadores com movimentos orbitais.
- Não move a placa e afaste-a de vibrações.
- Após 2 horas, leia o resultado da reação.

### 10 - OBSERVAÇÃO / LEITURA DA REAÇÃO

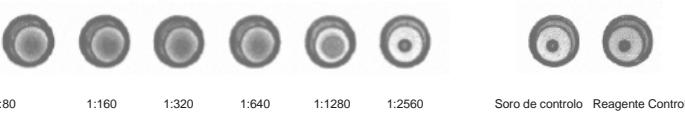
Reação negativa: Ausência de hemaglutinação.

Na parte inferior do poço, pode ver um anel mais ou menos largo.

Reação positiva: Presença de hemaglutinação.

Presença de uma camada castanha avermelhada na parte inferior do poço; às vezes, também é visível um anel fino periférico.

Exemplo de hemaglutinação obtida com um soro 1:1280 positivo:



### 11 - INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Título < 1:320:

Reação não significativa.

Provavelmente não há aspergilose invasiva.

Repita o teste após 2 a 3 semanas e realize eletroforese em contracorrente ou imunoelétroforese.

Título = 1:320:

Reação ambígua.

Repetir o teste após 2 a 3 semanas e realizar eletroforese em contracorrente ou imunoelétroforese

Título ≥ 1:640:

Resposta significativa que indica aspergilose invasiva.

### 12 - CONTROLO INTERNO DE QUALIDADE

CONTROLO + e CONTROLO - devem ser tratados como amostras de pacientes. O título do CONTROLO + deve corresponder ao título impresso no rótulo do frasco ± uma diluição. Não deve existir hemaglutinação do CONTROLO -. Se houver hemaglutinação, o teste é inválido.

### 13 - CAUSAS DOS ERROS E LIMITAÇÕES DO MÉTODO

- Má preservação do soro.
- Má preservação dos reagentes após a abertura.
- Use apenas o conta-gotas incluído no kit.
- Os conta-gotas não devem ser trocados entre os reagentes R1 e R2.
- Em caso de reação positiva nos primeiros 6 poços, outra série de diluições será realizada para determinar o limite do título de hemaglutinação.
- O controlo do soro deve mostrar uma reação negativa (anel). Em caso de hemaglutinação deste controlo, o teste deve ser repetido após as aglutininas naturais contra ovinos terem sido removidas do soro por adsorção.
- O controlo do reagente deve mostrar uma reação negativa (anel). Em caso de hemaglutinação deste controlo, o **Aspergillus ELI.H.A não pode ser usado**.
- Alguns soros, com concentração de anticorpos muito alta, pode causar um fenómeno de zona (com o desaparecimento da turbidez nas primeiras diluições), que desaparece novamente nas diluições subsequentes.
- A qualidade dos reagentes permite que a reação seja realizada à noite e o teste seja lido na manhã seguinte, desde que a placa de microtitulação não se move de forma alguma e esteja protegida de choques.
- Em todos os casos, os dados clínicos, epidemiológicos e biológicos devem ser totalmente levados em consideração antes de estabelecer o diagnóstico final.

### 14 - EFICÁCIA

ELI.H.A Aspergillus é composto por hemácias sensibilizadas ao antígeno *Aspergillus fumigatus*, o que garante a especificidade e sensibilidade da reação de hemaglutinação indireta.

Os resultados das avaliações dos testes mostram uma sensibilidade de 80% e uma especificidade de 98%.

### 15 - ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

Os resíduos devem ser eliminados no país de utilização de acordo com as regras e normas de higiene aplicáveis a este tipo de produto.

Se o reagente BUF derramar, limpe a área de trabalho com papel absorvente e enxague com água. Se o soro ou outro reagente for derramado na área de trabalho, limpe-o com lixívia e papel absorvente.

### 16 - LITERATURA

1. J. CAPEDEVILLE, S. FIABANE - Diagnostic immunologique des aspergilloses - *Le Pharmacien Biologiste*, Volume XII, Nº 121, 205-249.
2. B. pesson, N. LEGER, G. MADULOU-LEBLOND - Diagnostic immunologique en parasitologie et en mycologie *Le Pharmacien Biologiste*, Tomo XIII, Nº 123, 417-455.
3. J.-M. SENET, C. BRISSET - The diagnosis of aspergillosis by passive haemagglutination - *Biomedicine*, 1973, 19, 365-368.
4. J.-M. SENET, R. ROBERT, E. PICHOT - Intérêt de l'hemagglutination indirekte dans le diagno précoce de l'aspergillose - *Bulletin de la Société de Mycologie Médicale*, 1974, Tomo III, Nº 1, 45-48.
5. J.-M. SENET, R. ROBERT - Intérêt de l'hemagglutination dans le diagnostic de maladies parasitaires. Application à la toxoplasmose et à l'aspergilose - *Archives Médicales de l'Ouest*, 1979, Tomo 11, Nº 1, 39-42.
6. A. CULINO, M. MIEGEVILLE, O. MORIN - Apports de l'hemagglutination indirekte dans le diagnostic de l'aspergilose pulmonaire - *Feuilles de Biologie*, 1984, Vol. XXV, Nº 137, 51-57.
7. M. MIEGEVILLE, O. MORIN, C. VERMEIL - Etude sérologique rétrospective concernant une série d'aspergillose chez des malades à "hauts risques" - *Feuilles de Biologie*, 1986, Vol. XXVII, Nº 148, 37-39.
8. M.-C. GBADAMASSI, C. CIVADIER, T. SANDRE, T.-H. DUONG, C. COMBESCOT - Diagnostic immunologique de l'aspergillose : Proposition de l'association de deux techniques facilmente mises en œuvre au laboratoire - *Feuilles de Biologie*, 1989, Vol. XXX, Nº 169, 31-34.

As alterações em relação à versão anterior são destacadas em cinzento.

ELTech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau

Allée d'Athènes

83870 SIGNES

FRANCE

T: 33 (0)4 94 88 55 00

<http://www.elitechgroup.com>