



Este manual de uso deve ser lido cuidadosamente antes da utilização do produto.

Dermatophyte Test Strip

# Diafactory Tinea Unguium.

10 TESTES



## (Precauções Gerais)

- IVD** Diafactory Tinea Unguium (este equipamento) foi concebido unicamente para o uso como diagnóstico in vitro e não se deve utilizar para nenhum outro objetivo.
- O usuário deverá avaliar o resultado deste ensaio em conjugação com os sintomas clínicos e os resultados de outros testes.
- Este equipamento só deve ser usado como se indica. A fiabilidade de valores não se poderá garantir se o kit for utilizado para outros fins ou se os testes se realizarem por outros métodos que não sejam os indicados no manual.

## [Descrição (Componentes do kit)]

	Elementos	Composição
1	Tiras Reativas	Anticorpos monoclonais de rato (Anti- <i>Trichophyton</i> ). Anticorpos monoclonais de rato (Anti- <i>Trichophyton</i> ) marcados com ouro coloidal
2	Solução de Extração	Tampão
3	Manual de instruções	Documento

Acessórios: Tubo de ensaio, varetas agitadoras

## [Uso ao que se destina]

Deteção de antígenos de *Trichophyton* em amostras ungueais (como apoio ao diagnóstico de Tinea unguium)

## [Princípio do Método]

“Diafactory Tinea Unguium” é um ensaio imunocromatográfico criado para a procura de antígenos de *Trichophyton* em amostras de unhas e utiliza anticorpos monoclonais de rato frente a *Trichophyton* imobilizados sobre uma membrana de nitrocelulose. A tira reativa utilizada no kit compõe-se duma almofadinha para a amostra, uma tira de reagente, uma tira de teste e uma almofadinha absorvente (Figura 1). A tira de reagente está sensibilizada com anticorpos monoclonais de rato anti-*Trichophyton* marcados com ouro coloidal pré-dessecados e a tira de teste contém anticorpos monoclonais de rato anti-*Trichophyton* cobrindo a zona da linha “Teste” e o traçador pré-dessecado cobrindo a zona da linha “Controlo”. Este traçador é incolor a pH 3 e vira a rosado a pH aproximadamente 4 ou superior, e permite ao usuário verificar que a amostra se difundiu corretamente e passou pela zona de linha “Teste”.

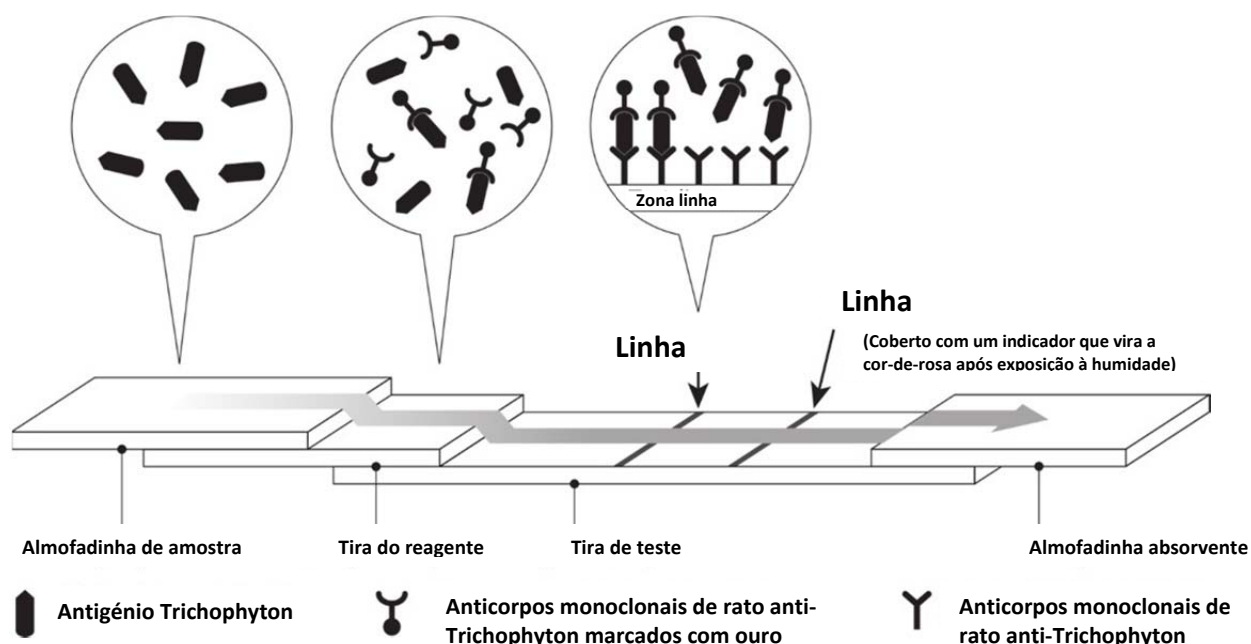


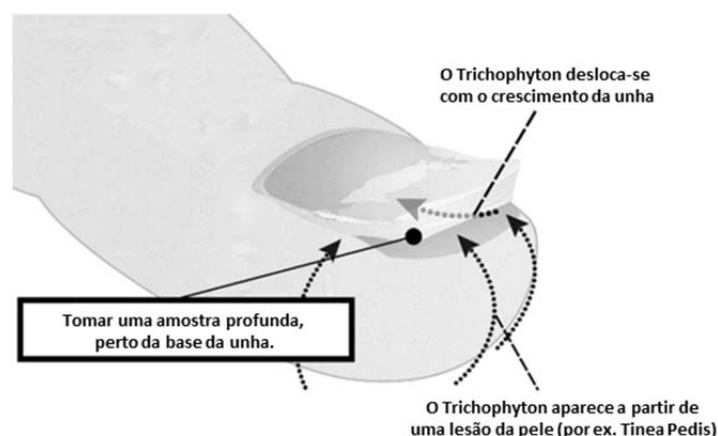
Figura 1. Princípio do Método

Uma amostra que tenha impregnado a almofadinha de amostra (a seguir denominada “amostra extraída”) desloca-se à tira de reagente sobre a que os antígenos Trichophyton da amostra extraída se unirão aos anticorpos monoclonais de rato anti-Trichophyton marcados com ouro coloidal para formar um imunocomplexo. Continuando pela tira de teste, o imunocomplexo é capturado pelos anticorpos do monoclonal de rato anti-Trichophyton na zona da linha “Teste”, provocando a aparição de uma linha cor-de-rosa de ouro coloidal (no caso de amostra positiva). Se a amostra não contém antígenos Trichophyton, não se formarão os imunocomplexos e a amostra com os anticorpos monoclonais de rato anti-Trichophyton marcados com ouro coloidal não ligados passará sobre a zona da linha “Teste” sem produzir qualquer cor visível. A amostra extraída que contém os anticorpos monoclonais de rato anti-Trichophyton marcados com ouro coloidal sobranste, tanto se é antígeno Trichophyton positivo como se é negativo, passa pela zona da linha “Teste” e alcança a zona da linha “Controlo”, onde a amostra extraída reage com o indicador imobilizado, provocando a aparição duma faixa cor-de-rosa.

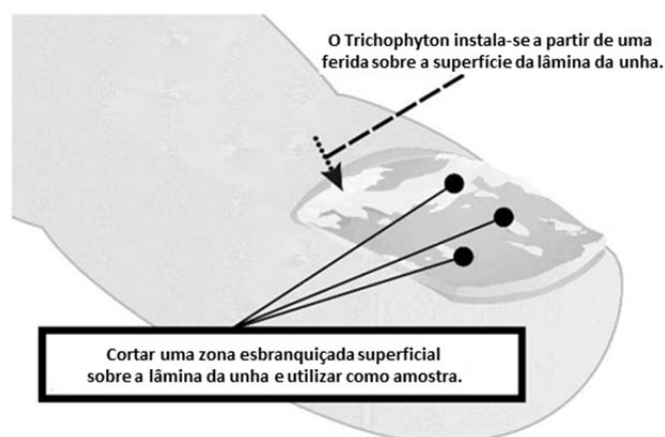
#### [Precauções Processuais]

1. Precauções com respeito às amostras:
  1. Este kit está concebido para a deteção de antígenos Trichophyton em unhas. Não se podem utilizar descamações, couro cabeludo, cabelo ou outras amostras.
  2. Obter uma amostra de 1 mg ou mais, segundo as diretrizes para diagnóstico e tratamento de infeção fúngica cutânea.<sup>1,2</sup>
  3. Um procedimento inadequado na colheita ou uma quantidade insuficiente de amostra obtida pode conduzir a resultados falsamente negativos ou a uma incorreta avaliação.
2. Colheita e Preparação das amostras:
  1. Segundo as diretrizes para o diagnóstico e tratamento de infeção cutânea fúngica, obter uma amostra e colocá-la num tubo de teste do kit. Utilizar um cortador de unhas tipo pinça limpo ou tesouras cirúrgicas para a tomada da amostra.
  2. A colheita da amostra deve ser realizada, por uma pessoa qualificada com formação adequada, com treino e/ou experiência segundo as diretrizes para o diagnóstico e o tratamento de infeções cutâneas fúngicas. O procedimento para a tomada de amostras aparece parcialmente nas imagens inferiores.
    1. Onicomicose Subungueal Distal e Lateral.

Retirar a área de onicólise ou a ponta da unha e tomar uma amostra profunda debaixo da unha, tão perto quanto possível do leito ungueal. Se não se pode tomar dita amostra, tomar uma amostra da superfície da pele (nomeadamente do leito ungueal), onde está presente a onicólise.



2. Onicomicose Superficial Branca  
Retirar a zona esbranquiçada superficial sobre a lâmina da unha com um cortador de unhas tipo pinça ou com tesouras cirúrgicas e utilizar como amostra.



3. É desejável que a quantidade da amostra seja superior a 1 mg.

### 3. Influência de Medicamentos

Realizou-se uma avaliação para verificar a influência sobre o teste de antifúngicos orais (terbinafina, itraconazol) que se utilizam comumente no tratamento de Tinea Ungulum. Foram submetidas a avaliação, com o kit, amostras de controlo negativas, positivas e debilmente positivas (preparadas por diluição da amostra de controlo positiva com a amostra de controlo negativa), que se misturaram com ditos antifúngicos, não se observando em qualquer caso influência na reatividade. A concentração de cada droga acrescentada foi aproximadamente 100 vezes a CMI (concentração mínima inibitória).

Tabela 1. Influência de Antifúngicos nas Amostras

Antifúngico	Concentração $\mu\text{g/ml}$	Influência
Terbinafina	0,5	Não se observa
Itraconazol	100	Não se observa

### 4. Outras Precauções

- (1) O teste deve realizar-se uma vez aberto o saquinho da tira de teste.
- (2) Não torcer nem dobrar a tira.
- (3) Não tocar nem danificar a zona da almofadinha da amostra da tira reagente.
- (4) Colocar a quantidade suficiente de solução de extração no tubo de teste.
- (5) As tiras reagentes, solução de extração, tubos de teste e varetas agitadoras do kit só podem utilizar-se uma vez. Não reutilizar.
- (6) Ler o resultado após 30 minutos no máximo. O resultado determinar-se-á como positivo se aparecem linhas coloridas tanto na zona da linha "Teste" como na zona da linha "Controlo" depois de ter passado, pelo menos, 5 minutos. Da mesma maneira, o resultado pode-se julgar como negativo se não aparece qualquer linha visível na zona da linha "Teste" e aparece uma linha colorida na zona da linha "Controlo" depois de terem decorrido, pelo menos, 5 minutos.

#### [Procedimento do Teste]

O procedimento seguinte deverá realizar-se em temperatura ambiente (1 a 30°C)

- (1) Tomar as quantidades necessárias de tiras reagentes, varetas agitadoras e solução de extração.
- (2) Distribuir entre 0.25 e 0.50 ml de solução de extração no tubo de teste (Figura 2). Colocar a amostra no tubo de teste e agitar pelo menos 20 vezes com uma vareta agitadora, pressionando a amostra para baixo. Depois do agitamento, deixar o tubo de ensaio num suporte de tubos de teste durante pelo menos 1 minuto.

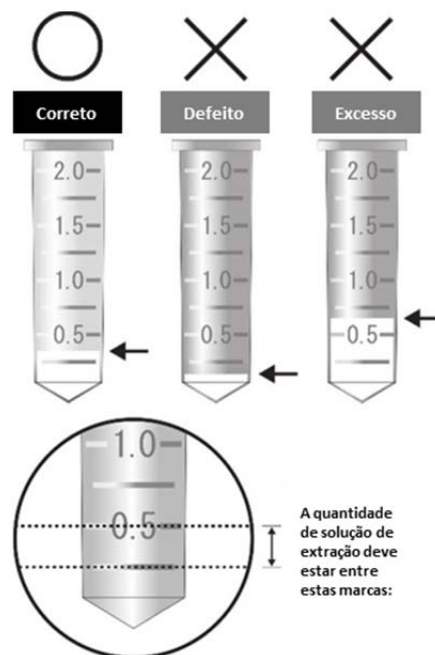


Figura 2

- (3) Rasgar pelo corte o saquinho de alumínio e extrair uma tira reativa. Segurar a tira somente pela zona indicada (oposta às setas). Não tocar a almofadinha de amostra (Figura 3).
- (4) Sujeitar a tira reativa no tubo de teste com a almofadinha da amostra para abaixo (setas para baixo). Verificar que a almofadinha de amostra atingiu o extremo inferior do tubo de teste. Deixar a tira reativa permanecer em repouso pelo menos 5 minutos e depois determinar o resultado (positivo, negativo ou não válido) visualmente, verificando a presença ou a ausência de faixas coloridas nas zonas das linhas “Controlo” e “Teste”, num prazo máximo de 30 minutos após ter introduzido a tira reativa no tubo de teste.

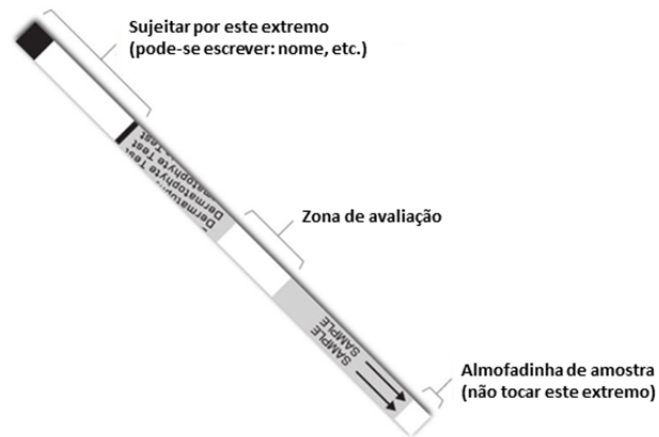


Figura 3

#### [Interpretação de Resultados]

- (1) A aparição de uma faixa cor-de-rosa na zona da linha “Controlo” e uma faixa roxa na zona da linha “Teste” indica um resultado positivo para antigénio Trichophyton. A aparição de uma faixa cor-de-rosa na zona da linha “Controlo” que não vai acompanhada de qualquer faixa visível na zona da linha “Teste” indica um resultado negativo.
- (2) Se não aparece qualquer faixa cor-de-rosa na zona da linha “Controlo” entre 5 e 30 minutos depois, o teste não é válido.
- (3) Se a faixa na zona da linha “Teste” aparecesse depois de 30 minutos, o resultado é negativo.

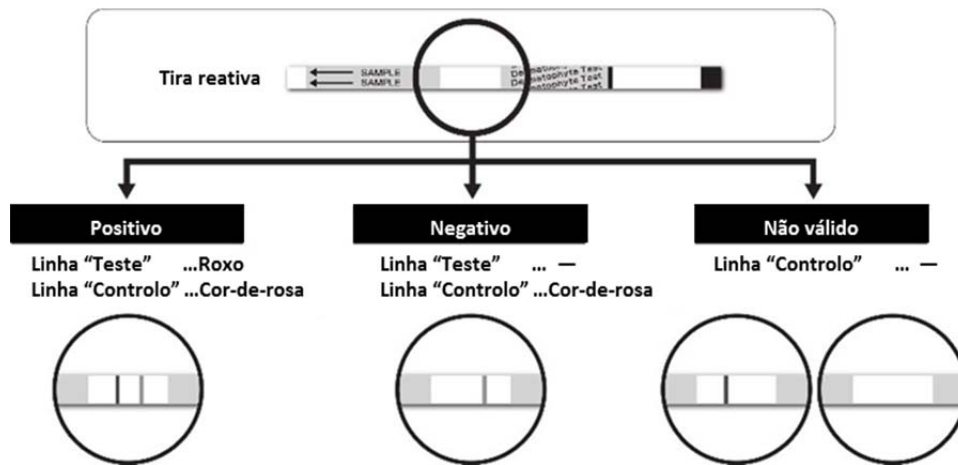


Figura 4

#### Precauções na interpretação

1. Se a quantidade de Trichophyton na amostra da unha é pequena, o resultado pode negativar-se. Obviamente, o usuário deverá avaliar o resultado deste teste conjuntamente com os resultados de outros testes e sintomas clínicos.
2. Este teste apresenta reatividade cruzada com outros fungos distintos a Trichophyton, tais como Aspergillus e Penicillium. Estes fungos podem estar presentes no chão ou outros entornos e infectar a pele de pacientes imunocomprometidos. Isso dever-se-á ter em conta na hora da realização de um diagnóstico.

## [Significado Clínico]

“Diafactory Tinea Unguium”, a diferença da microscopia direta, não requer habilidades especiais para determinar se os Trichophyton estão presentes ou ausentes na amostra. Da mesma maneira, este kit, a diferença da PCR, não requer equipamento especial. “Diafactory Tinea Unguium”, que é fácil de usar e fornece resultados rápidos, é um teste eficaz para o diagnóstico rápido de Tinea Unguium.

## [Prestações do Teste]

### 1. Prestações

#### (1) Sensibilidade e Precisão

No teste de um controlo negativo, o kit forneceu um resultado negativo

No teste de uma amostra debilmente positiva e de um controlo positivo, o kit forneceu resultados positivos..

#### (2) Reprodutibilidade intra-ensaio

No teste repetido 4 vezes de um controlo negativo, o kit forneceu sempre um resultado negativo.

Igualmente, no teste repetido 4 vezes de uma amostra debilmente positiva e de um controlo positivo, o kit forneceu sempre resultados positivos.

#### (3) Limiar de Sensibilidade

*Trichophyton rubrum* (NBRC 9185), 0.5 µg peso seco/mL.

#### (4) Standard de Referência para Calibração

Extrato seco de células de *Trichophyton rubrum* (NBRC 9185).

#### (5) Reatividade Cruzada

Acrescentaram-se, à solução de extração, células secas autoclavadas de diferentes fungos distintos de *Trichophyton* numa concentração de 300 µg/ml para avaliar a influência de cada fungo sobre o teste. Além disso, as colónias de várias bactérias cultivadas em placas de agar acrescentaram-se à solução de extração para avaliar a influência de cada bactéria sobre o teste. O kit não foi reativo com os fungos provados, exceto com os que aparecem na listagem inferior.

#### **O teste foi não reativo com os fungos que aparecem a seguir:**

*Aspergillus nidulans*, *Penicillium citrinum*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Alternaria alternata*, *Pseudallescheria boydii*, *Scedosporium apiospermum*, *Prototheca wickerhamii*, *Schizophyllum commune* (1 nucleus), *Schizophyllum commune*, (2nucleii), *Absidia corymbifera*, *Basidiobolus ranarum*, *Cunninghamella bertholletiae*, *Mortierella isabellina*, *Mucor circinelloides*, *M. racemosus*, *Rhizomucor pusillus*, *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis*, *R. oryzae*, *R. stolonifer* var. *reflexus*, *Syncephalastrum racemosum*, *Zygorhynchus exponens*, *Candida albicans*, *C. dubliniensis*, *C. tolocalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *Geotrichum candidum*, *Trichosporon asahii*, *Cryptococcus neoformans* serotype A, *C. neoformans* serotype B, *C. neoformans* serotype C, *C. neoformans* serotype D, *C. neoformans* serotype AD, *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Exophiala jeanselmei*, *Phialophora verrucosa*, *P. richardsiae*, *Rhinocladiella atrovirens*, *Cladophialophora bantiana*, *Malbranchea albolutea*, *M. aurantiaca*, *M. chrysosporioidea hrysosporioidea*, *M. cinnamomea*, *M. dendritica*, *M. filamentosa*, *M. flava*, *M. flocciformis*, *M. fulva*, *M. graminicola*, *M. gypsea*, *M. multicolor*, *M. pulchella*, *Malassezia furfur*, *Gymnoascoideus petalosporus*, *Auxarthron reticulatum*, *Gymnoascus intermedius*, *G. petalosporus*, *G. reessii*, *G. udagawae*, *Emmonsia parva* var. *crecens*, *E. parva* var. *parva*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Apinisia queenslandica*, *Arthroderma multifidum*, *Uncinocarpus reesii*, *Chrysosporium carmichaelii*, *C. indicum*, *C. keratinophilum*, *C. pseudomerdarium*.

#### **O teste foi reativo com os fungos que aparecem a seguir:**

*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Neosartorya fischeri*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium griseofulvum*, *Veronaea botryosa*, *Fusarium solani*, *Exophiala dermatitidis* (M-Y form), *E. dermatitidis* (G form), *E. spinifera*, *Hortaea werneckii*, *Malbranchea circinata*, *M. flavorosea*.

#### **O teste foi não reativo com as bactérias que aparecem a seguir:**

*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *S. faecalis*.

#### (6) Reatividade de Dermatofitos

Acrescentaram-se, à solução de extração, células secas autoclavadas de Dermatofitos numa concentração de 300 µg/mL para avaliar a reatividade do teste. O kit foi reativo com os que aparecem a seguir.

*Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. tonsurans*, *T. violaceum*, *T. verrucosum*, *Microsporum gypseum*, *M. canis*, *Epidermophyton floccosum*.

### 2. Resultados do Estudo Clínico de Prestações<sup>4</sup>

Foram recolhidas amostras de unhas em pé ou mão, segundo as diretrizes para o diagnóstico e o tratamento de infeção fúngica cutânea em 222 pacientes (em 11 centros) suspeitos de “Tinea Unguium” em inspeção visual. A amostra foi repartida em 3 fragmentos e ensaiada respetivamente com o kit, microscopia direta e PCR (só amostras nas que os resultados do kit e a microscopia direta eram incoerentes). A recolha da amostra, a microscopia direta, o uso do kit e PCR foram realizados por pessoas diferentes em condições cegas.

#### (1) Comparação entre os resultados de “Diafactory Tinea Unguium” e PCR (e microscopia direta)

Los análisis fueron realizados sobre 222 pacientes. En 5 pacientes en que los resultados del kit y la microscopía directa eran incoherentes y no se podía realizar PCR porque la cantidad de muestra era insuficiente, se utilizó el resultado de microscopía directa.

**Tabela 2.** Comparação entre os Resultados de “Diafactory Tinea Unguium” e PCR que incorpora Microscopia Direta

		PCR incorporando microscopia direta		
		Positivo	Negativo	Total
Diafactory <i>Tinea</i> <i>Unguium</i>	Positivo	196	5	201
	Negativo	6	15	21
	Total	202	20	222

**Sensibilidade:** 97.0%  
**Especificidade:** 75.0%  
**Correlação Total:** 95.0%  
**Correlação Negativa:** 71.4%  
**Correlação Positiva:** 97.5%

- (2) Comparação entre os resultados de Diafactory Tinea Unguium e o diagnóstico final do dermatólogo (baseado nos resultados de microscopia direta, PCR, clínica, recolhida de amostra, etc.) As análises foram realizadas sobre 217 pacientes, excluindo 5 pacientes nos que a PCR não se pôde realizar porque a quantidade de amostra era insuficiente e não se conseguiu realizar um diagnóstico final. As análises foram realizadas sobre 222 pacientes. Em 5 pacientes em que os resultados do kit e a microscopia direta eram incoerentes e não se podia realizar PCR porque a quantidade de amostra era insuficiente, utilizou-se o resultado de microscopia direta.

**Tabela 3.** Comparação entre os resultados de Diafactory Tinea Unguium e o diagnóstico final

		Diagnóstico Final		
		<i>Tinea Unguium</i>	<i>Não Tinea Unguium</i>	Total
Diafactory <i>Tinea</i> <i>Unguium</i>	Positivo	196	5	201
	Negativo	6	15	21
	Total	202	20	222

**Sensibilidade:** 98.0%  
**Especificidade:** 88.2%  
**Correlação Total:** 97.2%  
**Correlação Negativa:** 78.9%  
**Correlação Positiva:** 99.0%

#### [Precauções de Uso e Manejo]

1. Precauções na manipulação (Prevenção de Riscos)



- (1) Se a solução de extração contactasse diretamente com olhos, boca, ou pele, como primeiros auxílios, aclarar a fundo com água corrente e procurar, se for necessário, tratamento médico.
- (2) Durante a manipulação de amostras com o kit, utilizar máscara, luvas e roupa protetora. Lavar meticulosamente as mãos depois dos testes.
- (3) Todas as amostras usadas para o teste deverão manipular-se como material potencialmente infeccioso. As tiras de teste usadas, amostras extraídas, tubos de teste e varetas agitadoras dever-se-ão manipular da mesma maneira que as amostras.
- (4) Para a prevenção de infeções por salpicaduras de amostras ou soluções que as contenham, limpar as zonas de derrame, e contaminadas, energicamente com desinfetantes tipo soluções de hipoclorito de sódio.

2. Precauções de uso

- (1) Os reagentes neste equipamento só se podem usar para a deteção de antígenos de Dermatofitos em unhas.
- (2) Utilizar instrumentos limpos na tomada de amostras.
- (3) Não utilizar o kit depois da data de caducidade.



- (4) As tiras reativas, solução de extração, tubos de teste e varetas agitadoras do kit só se podem usar uma vez. Não reutilizar.

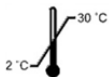


- (5) O kit deve-se armazenar entre 2 e 30°C. Evitar a congelação e a exposição à luz solar direta. Não combinar reativos de lotes diferentes.

3. Precauções na eliminação

- (1) Antes da sua eliminação, os contentores e tiras reativas utilizadas, devem-se autoclavar a 121°C durante 20 minutos ou submergir-se numa solução de hipoclorito de sódio durante pelo menos uma hora, já que são potencialmente infecciosos.
- (2) Os contentores usados, etc. devem-se incinerar ou eliminar como resíduos médicos ou industriais segundo os regulamentos de recolha de resíduos aplicáveis.

[Armazenagem e Vida Útil]



Temperatura de armazenagem: 2 a 30°C (Não congelar)



Vida média: 36 meses desde a data de fabrico (prazo de validade impresso no exterior da caixa).

[Conteúdo da Embalagem]



DE001 ----- 10 testes/kit

[Bibliografia]

1. Ameen M, Lear JT, Madan V, Mohd Mustapa MF, Richardson M. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of onychomycosis 2014. *Br J Dermatol* 2014; 171: 937–958.
2. Guidelines of care for superficial mycotic infections of the skin: onychomycosis. Guidelines/Outcomes Committee. American Academy of Dermatology. *J Am Acad Dermatol* 1996; 34: 116-121.
3. British Association of Dermatologists: Guidelines for treatment of onychomycosis, Roberts DT., Taylor WD., Boyle J., *Br. J. Dermatol.*, 148, 402- 410, 2003
4. Screening for tinea unguium by Dermatophyte Test Strip, Y. Tsunemi, et.al, *Br. J. Dermatol.*, 170, 328-331, 2014
5. Clinical study of Dermatophyte Test Strip, an immunochromatographic method, to detect tinea unguium dermatophytes, Y. Tsunemi, M. Hiruma, *J Dermatol.* 2016 Mar 19. [Epub ahead of print]

[Símbolos]

	Consultar instruções de utilização
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Precaução. Consulte a documentação adjunta
	Manter-se longe da luz solar
	Limite de temperatura
	Prazo de validade
	Suficiente para <n> testes
	Referência em catálogo
	Número de lote
	Fabricante
	Representante autorizado em CE

[Fabricante]



JNC Corporation  
Shin Otemachi Bldg., 2-1, Otemachi 2-Chome, Chiyoda-ku, Tokyo  
100-8105, Japan

[Representante autorizado CE]



Emergo Europe  
Molenstraat 15, 2513BH, The Hague, The Netherlands



IFU DE001, Revised 20161006, Rev 1.2  
IFU DE001ES, Revisado 01122016, Rev. 1.2  
IFU DE001POR, Revisado 10032017, Rev 1.2