

FUNGADIA

Aspergillus Antigen

Instruction d'utilisation – Français

Veillez lire attentivement ce mode d'emploi avant d'utiliser le test

UTILISATION PRÉVUE

FungaDia-Aspergillus est un test rapide immuno-chromatographique pour la détection qualitative de l'antigène galactomannane d'Aspergillus dans des échantillons de sérum et lavage bronchoalvéolaire (LBA) chez des patients adultes ou des enfants. La détection du galactomannane dans le sérum ou LBA peut être utilisé comme aide au diagnostic de l'aspergillose invasive (AI). Ce kit est à usage professionnel uniquement et doit être utilisé en association avec d'autres techniques de diagnostic telles que la culture microbiologique, l'examen histologique de biopsie ou l'examen radiologique pulmonaire.

INTRODUCTION

L'Aspergillose est un terme qui regroupe les infections causées par des champignons appartenant au genre *Aspergillus*, dont les spores sont véhiculées par l'air et sont inhalées par tous les individus. L'espèce *Aspergillus fumigatus* est responsable de plus de 80% des aspergilloses humaines. L'Aspergillose Invasive affecte les voies respiratoires inférieures après inhalation de ces spores. Elles surviennent principalement chez les patients neutropéniques (traitement anticancéreux), chez les patients traités par immunosuppresseurs et corticostéroïdes (suite à une transplantation de moelle osseuse) et chez les patients hospitalisés en réanimation pour une atteinte respiratoire sévère (grippe, COVID-19). Les symptômes sont fièvre, toux, douleurs thoraciques, hémoptysies, difficultés respiratoires. En raison de l'absence de manifestations cliniques typiques et de méthodes de diagnostic précoce efficaces, l'AI peut présenter un taux de mortalité jusqu'à 50%. La détection rapide et précoce est un facteur clé dans le traitement efficace et la réduction de la mortalité de l'AI.

PRINCIPE DU TEST

Le test se compose de deux lignes déposées sur une membrane de nitrocellulose, une ligne contrôle (C) et une ligne test (T). La ligne T se compose d'un anticorps monoclonal anti-galactomannane et la ligne C d'un anticorps anti-lapin. Les anticorps anti-galactomannane conjugués à des nanoparticules d'or sont utilisés comme moyen de détection. Si l'échantillon est positif, les antigènes réagissent avec les nanoparticules d'or, présentes sur le tampon d'échantillon, et forment un complexe (Antigène – anticorps anti-galactomannane – nanoparticules d'or). Ce complexe migre sur la membrane de nitrocellulose par capillarité. Lorsque

le mélange migre sur la membrane, l'anticorps anti-galactomannane présent sur la ligne test (T) va se lier au complexe et former une ligne rouge. Si l'échantillon est négatif, il n'y a pas d'antigène présent, ou si la quantité d'antigène est en dessous de la limite de détection, il n'y a pas de complexe avec les nanoparticules d'or qui sera formé. L'anticorps anti-galactomannane sur la ligne test ne va pas réagir et aucune ligne rouge ne sera présente sur la ligne test (T).

Dans tous les cas, le complexe continue de migrer sur la nitrocellulose jusqu'à la ligne contrôle (C), où un anticorps spécifique de lapin est présent. L'anticorps va réagir avec l'excès de nanoparticules d'or et une ligne rouge va apparaître. La présence de cette ligne sert de : (1) vérification qu'un volume d'échantillon a été ajouté, (2) le flux de liquide était correct et (3) sert de contrôle interne des réactifs. Cette ligne doit toujours apparaître pour que le test soit valide.

CONTENU DU KIT

Composants	Quantité par kit
Test rapide en pochette individuelle	25
Contrôle positif (50 ng/ml Galactomannane)	1 x 1.0 mL
Contrôle négatif	1 x 1.0 mL
Solution de traitement de l'échantillon	1 x 3.0 mL
Instruction d'utilisation	1

Note: Ne pas utiliser les composants d'autres kits

Équipement requis mais non fournis

1. Pipettes et embouts stériles
2. Minuteur
3. Microtubes 1.5 ml stériles à vis (recommandé : 72.692.005, Sarstedt)
4. Centrifugeuse
5. Incubateur à bloc sec

CONDITION DE STOCKAGE ET CONSERVATION

1. Conserver le test à 2-30°C, le kit est stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur la boîte.
2. Conserver dans un endroit sec, ne pas congeler et éviter l'exposition directe au soleil.
3. Utilisez le test dans les 60 minutes après l'ouverture de la pochette. Les réactifs ouverts peuvent être conservés à température ambiante.

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

1. Types d'échantillons : Sérum et lavage bronchoalvéolaire (LBA)
2. Prélèvement des échantillons : Prélevez l'échantillon du patient conformément aux directives de collecte clinique des échantillons pour les tests de laboratoire
3. Évitez toute contamination pendant le prélèvement, le transport et la conservation des échantillons.
4. Les échantillons doivent être conservés entre 2 et 8 °C pendant 48 heures (échantillons de sérum) et 24 heures (échantillons de LBA); si les échantillons ne peuvent pas être testés à temps, conservez-les à une température inférieure à -20 °C. Évitez les congélations-décongélations répétées. Les échantillons traités peuvent être stockés à une température inférieure à -20 °C pendant 6 mois.

5. Les échantillons grossièrement hémolysés, ictériques ou lipidiques ne sont pas recommandés pour le test.

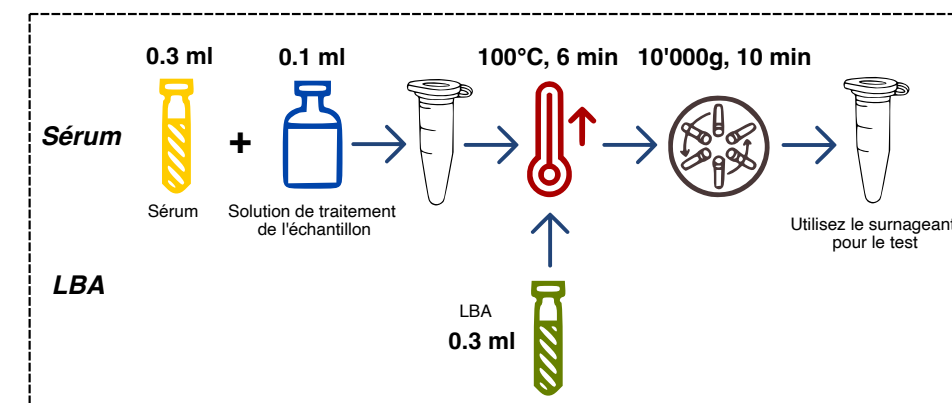
PROCÉDURE DE TEST

1. Prétraitement des échantillons

Sérum : Mélangez 300 µl de sérum avec 100 µl de solution de traitement dans un tube stérile de 1.5 ml, bien mélanger.

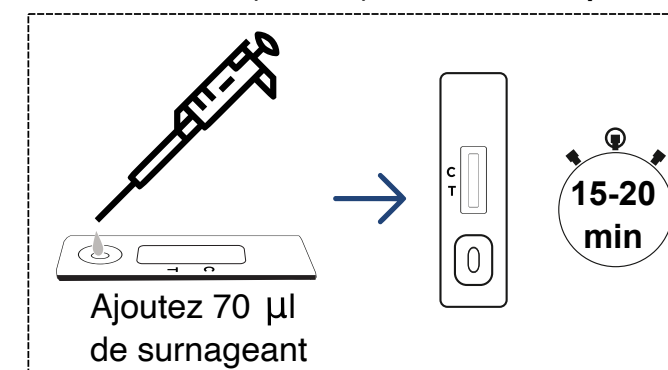
LBA : Ajoutez 300 µl de LBA dans un tube stérile de 1.5 ml. La solution de traitement n'est pas nécessaire pour les échantillons de LBA.

- Placez les tubes fermés dans un incubateur à bloc sec et chauffer 6 minutes à 100°C. (alternativement, chauffer 6 min à 130°C.)
- Centrifugez les tubes 10 minutes à 10'000 g
- Utilisez uniquement le surnageant pour le test



2. Détection

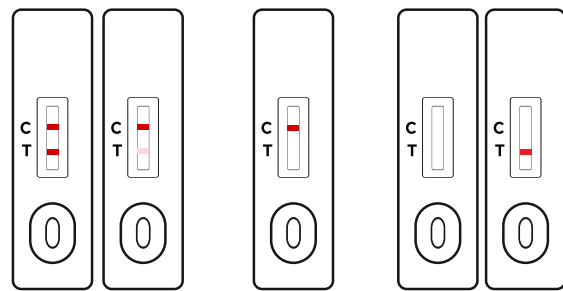
- Sortir le test du sachet aluminium et le placer horizontalement sur une table propre.
- Ajoutez 70 µl du surnageant dans la zone d'échantillon (S) du test.
- Lire le résultat au bout de 15-20 minutes. Ne pas déplacer le test pendant l'incubation. Ne pas interpréter le résultat après 40 minutes.



INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

La présence de deux lignes (ligne T et ligne C), indépendamment de l'intensité de la ligne T, indique un résultat positif. Si la ligne de contrôle (ligne C) n'apparaît pas, le test est invalide et doit être répété.

1. Un résultat négatif ne peut pas exclure une infection à Aspergillus et il est possible que l'échantillon soit prélevé avant l'apparition des antigènes d'Aspergillus Galactomannane ou la concentration est inférieure à la limite de détection (LOD).
2. L'intensité de la ligne ne peut pas être utilisé pour une évaluation quantitative de la concentration de l'antigène.


Positif
Négatif
Invalide

CONTRÔLE DE QUALITÉ

1. Contrôle positif : 70 µl du contrôle positif (non-traité) est ajouté au test. Le résultat du test doit être positif (présence de la ligne T).
2. Contrôle négatif : 70 µl du contrôle négatif (non-traité) est ajouté au test. Le résultat du test doit être négatif (pas de ligne T).

LIMITATIONS

1. Ce test doit être utilisé uniquement pour la détection du galactomannane dans des échantillons de sérum et LBA.
2. Les résultats de ce test ne sont donnés qu'à titre indicatif et ne doivent pas être utilisés comme seule base pour le diagnostic clinique et le traitement. La prise en charge clinique des patients doit être envisagée de manière globale en tenant compte de leurs symptômes, de leurs antécédents médicaux, des autres tests de laboratoire et des réponses au traitement.

PERFORMANCES

1. Limite de détection (LOD)

La limite de détection (LOD) a été évaluée avec 3 lots de test et est de 2 ng/ml de galactomannane.

2. Effet Hook

De très hautes concentrations de galactomannane (> 0.2 mg/ml) pourraient causer un effet Hook. Ces concentrations ne sont que très rarement observées. Diluez l'échantillon si nécessaire.

3. Substances interférentes et réactions croisées

Il n'y a pas de substances interférentes ni de réaction croisée connues. 50 ng/ml de (1-3)-β-D-glucane, de mannane de *Candida* et de polysaccharides capsulaires de *Cryptococcus*, ainsi que des compléments alimentaires contenant du galactomannane, maltodextrine et amidon de maïs (Abbott Nutrition) ont été testés et n'ont pas montré d'interférence à une concentration de 0.5%.

Réaction croisée	Aspergillus positif (ELISA)	Aspergillus négatif (ELISA)	Réaction croisée
Septicémie bactérienne	0	9/9	NON
COVID-19 positif	0	3/3	NON
HBsAg	0	5/5	NON
H.pylori IgG	0	3/3	NON
Anti-CCP	0	3/3	NON
F.rhumatoïdes IgG	0	3/3	NON
Anti-ANA anticorps	0	3/3	NON
ANA positif	0	2/2	NON

Échantillons positifs			
Substances interférentes	Concentration	Galactomannan	Résultats
(1,3)-β-D-glucane	50 ng/ml	6 ng/ml	POS (3/3)
<i>Candida albicans</i> mannane	50 ng/ml		POS (3/3)
Cryptococcal capsular polysaccharide	50 ng/ml		POS (3/3)

Échantillons négatifs		
Substances interférentes	Concentration	Résultats
(1,3)-β-D-glucan	50 ng/ml	NEG (3/3)
<i>Candida albicans</i> mannane	50 ng/ml	NEG (3/3)
Cryptococcal capsular polysaccharide	50 ng/ml	NEG (3/3)
Galactomannan from Carob	1 mg/ml	NEG (3/3)
Amoxicilline (Sandoz)	0.75 mg/ml	NEG (3/3)

Microorganisms		
Substances interférentes	Concentration	Résultats
<i>Aspergillus fumigatus</i> ATCC 204305	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-41311	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-35301	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-35302	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-35303	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus fumigatus</i> BEI NR-41312	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 9643	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus oryzae</i> ATCC 10124	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 9642	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus ustus</i> ATCC 10760	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus caesiellus</i> ATCC 42693	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus terreus</i> Thom ATCC 1012	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Aspergillus nidulans</i> ATCC 10074	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Penicillium chrysogenum</i> ATCC 10106	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Penicillium digitatum</i> ATCC 48113	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Paecilomyces variotii</i> ATCC 18502	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)
<i>Talaromyces (Penicillium) marneffei</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Cladosporium cladosporioides</i> ATCC 16022	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Magnusiomyces capitatus</i> ATCC 28576	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Alternaria alternata</i> ATCC 66981	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Lishtheimia ramosa</i> ATCC 22754	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Trichophyton interdigitale</i> ATCC 9533	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Trichophyton rubrum</i> ATCC 28188	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Candida albicans</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Candida parapsilosis</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Candida glabrata</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Candida tropicalis</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Candida krusei</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Coccidioides immitis</i>	10 ⁷ cfu/ml	NEG (3/3)
<i>Histoplasma capsulatum</i>	10 ⁷ cfu/ml	POS (3/3)

4. Évaluations Cliniques

Au total 153 échantillons de sérum et 34 échantillons de LBA ont été utilisés pour une étude rétrospective dans un centre universitaire Européen. La méthode de référence était le test ELISA (CE-IVD) Platelia (BioRad, Marnes-la-Coquette, France). Une deuxième étude prospective a été réalisée dans un CHU Français sur 84 échantillons. Une sensibilité de 85.7% et une spécificité de 89.3% a été calculée.

Sérum+BAL	Platelia	
FungaDia RDT	+	-
+	40	5
-	11	127

Sensitivity: 78,4% (CI95%: 64,3-88,2%)
Specificity: 96,2% (CI95%: 90,9-98,6%)
PPV: 88,9% (CI95%: 75,1-95,8%)
NPV: 92,0% (CI95%: 85,9-95,8%)

Sérum+BAL	Platelia	
FungaDia RTD	+	-
+	48	3
-	8	25

Sensitivity: 85,7% (CI95%: 73,2-93,2%)
Specificity: 89,3% (CI95%: 70,6-97,2%)
PPV: 94,1% (CI95%: 82,8-98,5%)
NPV: 75,8% (CI95%: 57,4-88,3%)

5. Répétabilité et reproductibilité

La répétabilité et reproductibilité du test ont été évaluées en interne avec trois lots différents avec un coefficient de variation (CV) <10%.

AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS

1. Ce test est utilisé pour le diagnostic in vitro, à usage professionnel uniquement.
2. Ne pas réutiliser le test
3. Ne pas utiliser le test après la date de péremption
4. Veuillez lire les résultats du test dans le délai imparti afin d'éviter toute interprétation erronée.
5. N'utilisez pas les composants de différents lots ou différents réactifs.
6. Éliminez correctement l'échantillon et les matériaux utilisés en respectant la réglementation locale en matière d'élimination des déchets biologiques ou chimiques.
7. Utilisez un équipement de protection lors de la manipulation des échantillons et des tests car ils peuvent contenir des agents infectieux et des composés d'origine animale ou humaine.
8. Lorsque la teneur en antigène d'*Aspergillus* dans l'échantillon est très élevée, la ligne C peut être affaiblie.
9. Dans de rares cas, des concentrations très élevées de galactomannane peuvent provoquer un effet Hook, entraînant des résultats faux-négatifs. Dans ce cas, il est recommandé d'utiliser une solution saline pour effectuer une dilution de l'échantillon.

Tout incident grave survenu en rapport avec le dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

RÉFÉRENCES

1. Reischies F, Hoenigl M. The role of surgical debridement in different clinical manifestations of invasive aspergillosis. *Mycoses* 2014; 57 (Suppl 2):1-14.
2. Eigl S. et al. Influence of mould-active antifungal treatment on the performance of the *Aspergillus*-specific bronchoalveolar lavage fluid lateral-flow device test. *Int J Antimicrob Agents*. 2015a; 46(4):401-5.
3. White PL. et al. Evaluation of real-time PCR, galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and a novel lateral-flow device for diagnosis of invasive aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2013; 51(5):1510-6.
4. Hoenigl M. et al. Performance of galactomannan, beta-D-glucan, *Aspergillus* lateral-flow device, conventional culture, and PCR tests with bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2014a; 52(6):2039-45.
5. Held J. et al. Comparison of a novel *Aspergillus* lateral-flow device and the Platelia galactomannan assay for the diagnosis of invasive aspergillosis following hematopoietic stem cell transplantation. *Infection*. 2013; 41(6):1163-9.
6. Johnson GL. et al. *Aspergillus*-specific lateral-flow device and real-time PCR testing of bronchoalveolar lavage fluid: a combination biomarker approach for clinical diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. *J Clin Microbiol*. 2015; 53(7):2103-8.

SYMBOLES

	Fabricant		Date d'expiration
	Ne pas réutiliser	LOT	Numéro de lot
	Date de fabrication	EC REP	Représentant autorisé en Europe
	Consultez le mode d'emploi	IVD	Dispositif médical pour diagnostic in vitro
	Limite de température	REF	Numéro de référence
	Suffisant pour <n> tests	CE	Marquage CE
	Pas pour "near-patient testing" (IVDR)		Pas pour "self-testing" (IVDR)



GaDia SA
 Route de l'île-au-Bois 1A
 1870 Monthey (Suisse)
 www.gadia.net
 info@gadia.net

EC REP ER Egészségügyi, Kereskedelmi és Szolgáltató Kft.
 Budafoki út 57/b
 1111 Budapest (Hungary)
 ujszaszi.istvan@erkft.hu

